à Monsieur le Professeur
M. Tiffeneau

avec l'expression de
toute ma reconnaissance
et de mon respectueux
dévouement.

J. Regnier

EXPOSE

DES

TITRES ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DE

JEAN REGNIER

ASSISTANT A LA FACULTE DE PHARMACIE

DE PARIS

TITRES et FONCTIONS

Pharmacien (1918)

Docteur de l'Université (Pharmacie) (1922)

Licencié ès-Sciences (1919)

Certificat de Chimie générale
Certificat de Chimie biologique
Certificat de Botanique
Certificat de Physiologie

Docteur ès sciences naturelles (1925)

Docteur en Médecine (1929)

Reçu à l'examen d'aptitudes aux fonctions d'Agrégé des Facultés de Pharmacie (Section de Pharmacie galénique et des Sciences naturelles appliquées à la Pharmacie, 1926)

Lauréat de la Faculté de Pharmacie :

Mentions honorables	(Concours de 2ème année 1913, et des Travaux pratiques de Parasitologie 1914)
Médaille d'argent	(Concours des Travaux pratiques de Chimie 1914)
Médaille d'argent	(Concours des Travaux pratiques de Micrographie 1914)
Médaille d'or	(Concours de 3ème année 1914)

Lauréat de la Faculté de Médecine :

Médaille d'argent (prix des Thèses 1929)

Lauréat de l'Académie de Médecine :

Prix Argut (1923)

Lauréat de l'Académie des Sciences :

Prix Martin Damourette (1930)

Interne en pharmacie des Hôpitaux de Paris : (1912)

Lauréat des Hôpitaux de Paris :

Médaille d'argent (Concours de l'Internat, 3ème année 1920)

Pharmacien des Hôpitaux de Paris (1920)

Préparateur des Travaux pratiques de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie de Paris (1919). Assistant du cours de Microbiologie (1928).

<u>SERVICES DE GUERRE</u> : du 8 Août 1914 au 7 Juillet 1917 : Groupe de Brancardiers du 33° Corps.

du 7 Juillet 1917 au 24 Janvier 1919 : Laboratoire de Bactériologie de l'Ambulance automobile chirurgicale N° 1.

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

Avant d'aborder l'analyse des travaux que j'ai effectués, je désirerais montrer rapidement les circonstances qui m'ont dirigé, et les buts que je désire atteindre.

Elève de Monsieur le Doyen Radais et de Monsieur le Professeur Tiffeneau, j'ai orienté mes efforts d'une part vers les recherches bactériologiques, d'autre part vers les essais pharmacologiques.

Après avoir commencé mes recherches dans un laboratoire d'Ambulance sur les microbes des plaies et en particulier des plaies gangréneuses; j'ai poursuivi ces essais au laboratoire de Bactériologie des Travaux pratiques de la Faculté de Pharma cie.

Un peu plus tard, au laboratoire de Monsieur le Professeur Tiffeneau, je fus dirigé vers l'étude des anesthésiques locaux. Après deux années consacrées à leur étude chimique, je fus intéressé plus particulièrement par leur action physiologique. Pour mieux connaître cette action, je dus créer ou mettre au point des méthodes de mesure de l'activité anesthésique locale. Ces méthodes sont maintenant utilisées de façon courante dans différents laboratoires français ou étrangers. Je les ai appliqués, pour ma part, à l'étude de plusieurs questions théoriques ou pratiques, telles que la mesure de la valeur anesthésique des corps les plus connus, et de celle des corps synthétiques nouveaux, préparés en série, ou telles que l'évaluation de l'influence de la réaction (pH) des solutions sur leur pouvoir anesthésique, ou que la recherche du mode de fixation de la cocaïne sur les fibres nerveuses.

Enfin, dans ces dernières années, j'eus à assurer, sous la haute direction de Monsieur le Professeur Radais, le travail du laboratoire de Microbiologie de la Faculté. J'ai dirigé les élèves qui m'ont été confiés dans deux voies qui tendent au même but : essayer de connaître quelques unes des causes qui gouvernent la vie des microbes et font varier leur vitalité et peut-être aussi leur virulence.

J'ai étudié ou fait étudier, d'une part l'action théorique ou pratique des substances antiseptiques sur les microbes, d'autre part l'influence qu'exercent sur la multiplication microbienne différents facteurs, tels que la qualité et la quantité des substances nutritives mises à la disposition des microbes, ou que le nombre des microbes ensemencés...



Dans toutes ces recherches, je me suis efforcé, dans un premier temps, de mettre au point des méthodes de mesure des phénomènes pharmacologiques ou biologiques purs que je désirais étudier (mesure des pouvoirs anesthésiques, mesure des pouvoirs antiseptiques, mesure de la multiplication microbienne par numérations diverses des microorganismes).

Puis, dans un deuxième temps, j'ai utilisé ces méthodes non seulement pour en tirer des résultats pratiques, mais encore, et surtout, pour essayer de pénétrer dans l'intimité des phénomènes à l'étude et de comprendre, dans la mesure actuellement possible, leur mécanisme.

Dans ces essais théoriques, j'ai voulu particulièrement connaître l'influence sur les phénomènes étudiés de facteurs physico-chimiques, tels que le pH ou la tension superficielle, et j'ai cherché à expliquer les résultats pharmacologiques obtenus en essayant de voir s'ils ne dépendaient pas des grands phénomènes physico-chimiques actuellement connus, tels que ceux qui règlent les adsorptions. Je me propose de continuer à étudier, autant qu'il me sera possible, les phénomènes biologiques, et en particulier l'action des médicaments sur les êtres vivants, en m'appuyant sur les données scientifiques modernes.

Les travaux dont je viens de parler ont été réalisés, pour une grande part, au laboratoire de mon hôpital. Ils l'ont été, en grande partie, avec la collaboration précieuse de mes internes ou anciens internes en pharmacie, dont certains sont devenus mes collègues à la Faculté ou aux Hôpitaux. Parmi mes collaborateurs, j'ai plaisir à citer particulièrement: MM. David et Valette, Melle Lambin et Mme Kaplan. -

En dehors de ces essais, je dois rappeler encore les recherches poursuivies aux laboratoires de Physiologie ou de Pharmacologie de la Faculté de Médecine. Avec H. Cardot, nous avons étudié les chronaxies des fibres nerveuses, motrices et sensitives, et leur variation sous l'influence des anesthésiques locaux. Ce sont ces recherches qui sont à la base des méthodes proposées pour mesurer l'anesthésie produite sur les fibres nerveuses. Avec H. Cardot et D. Santenoise, puis avec ce dernier et ses élèves, nous avons poursuivi l'étude des relations qui existent entre le système nerveux et les glandes à secrétion interne et en particulier la glande thyroïde. Ces recherches nous ont permis notamment de montrer l'existence de relations importantes entre l'activité de l'écorce cérébrale et le fonctionnement de la thyroïde et du pneumogastrique. Elles ont abouti à la démonstration physiologique de l'existence d'une hormone thyroïdienne régulatrice de l'excitabilité des centres psycho-moteurs.

Enfin, avec F. Mercier, nous avons étudié, d'un point de vue pratique, les toxicités de divers anesthésiques locaux, et leur activité en injection intrarachidienne.

Pour terminer, rappelons que j'ai consacré une très notable partie de mon temps à l'exercice des fonctions que j'ai assumées depuis la fin des hostilités, à la Faculté, et à la préparation de divers travaux de bibliographie, ou d'analyse destinés aux journaux scientifiques.

B A C T E R I O L O G I E

I - ETUDE DES MICROBES DES PLAIES DE GUERRE

Sérothérapie antigangréneuse

Dans mes publications, et dans ma thèse de Doctorat en pharmacie, je présente les données des nombreuses recherches bactériologiques, effectuées à l'Ambulance automobile chirurgicale N° 1, (Médecin chef : Professeur Ch. Lenormant) et les résultats obtenus avec le Dr. Mairesse, grâce à la sérothérapie préventive ou curative antigangréneuse, à une époque où l'efficacité de ces serums était extrêmement discutée.

a) - Examen direct de la plaie dès l'entrée du blessé. Sérothérapie préventive.

Dès l'arrivée du blessé à l'ambulance, avant l'opération chirurgicale, les plaies étaient soumises à un examen bactériologique rapide. Souvent, dès la huitième heure après la blessure, nous décelions parmi les microbes moins dangereux, l'apparition des bacilles anaérobies gangréneux. Nos résultats bactériologiques et cytologiques parvenaient donc au chirurgien en même temps que le blessé, et le renseignaient sur l'état microbien de la plaie. Nous injections dès ce moment au blessé porteur de germes gangréneux des quantités variables des divers sérums, en donnant pour les raisons exposées plus loin, la préférence au sérum antiperfringens. Puis nous suivions, après l'opération, l'évolution ultérieure de la blessure, complétant nos renseignements par des examens répétés et par des cultures, modifiant, quand il le fallait, notre traitement sérothérapique.

Un tel examen bactériologique de tous les blessés, dès leur entrée à l'ambulance, n'a été pratiqué, à notre connaissance, que dans notre service. Des essais de sérothérapie préventive ont bien été faits par d'autres auteurs, mais tous ces essais ont été fondés sur le seul examen clinique du blessé. Leur méthode est donc sujette à plus d'erreurs que la nôtre, et en tous cas l'injection du sérum était faite avec plus de retard.

Voici nos résultats :Du mois d'Avril au mois d'Octo bre 1918, nous avons examiné : 2224 blessés, porteurs de 2366 blessures. Sur ce nombre, 613 nous sont apparues contaminées par des bacilles anaérobies. Les cultures ont toujours donné du B. perfringens. Dans les cas où apparaissaient en même temps des bacilles sporulés, les cultures ont mis en évidence, seuls ou réunis: le B. sporogènes, le Vibrion septique et le

B. putrificus. On trouvera dans ma thèse la proportion des plaies contaminées, suivant les régions du corps, suivant la nature du projectile et suivant les périodes de calme où d'activité de la ligne de combat.

Sur les 2224 blessés examinés dès leur entrée et traités, s'il le fallait, par la sérothérapie préventive, 72 ont eu des accidents gangréneux secondaires nécessitant une sérothérapie curative. Si nous rapprochons ces résultats de ceux qu'apportent les auteurs qui n'ont pas utilisé les sérums, nous voyons que pour ceux-ci 10 % des plaies donnent naissance à des gangrènes gazeuses, alors que pour nous cette proportion s'abaisse à 3 %.

b) - Examen des plaies en traitement. Cultures microbiennes. Sérothérapie curative.

Un grand nombre de plaies, particulièrement les plaies gangréneuses, ont été étudiées par examens et cultures répétées jusqu'à la phase terminale: mort ou guérison du blessé. On trouvera l'énumération des gangrènes gazeuses observées, avec l'indication des microbes aérobies et anaérobies isolés, l'évolution de ces gangrènes avec la transformation de la flore microbienne suivant l'âge de la plaie, les soins chirurgicaux, l'application de tel ou tel antiseptique, la nature et l'intensité de la sérothérapie.

La plupart des résultats trouvés par les autres auteurs sont ainsi confirmés. Cependant, je ne puis m'associer à l'opinion soutenue par quelques bactériologistes, suivant lesquels seule l'association des cocci avec les microbes anaérobies crée la gangrène gazeuse. De nombreuses analyses ne m'ont en effet de déceler que le B. perfringens, sans autre microbe. De même, je ne puis m'associer à la conception d'après laquelle les microbes anaérobies sporulés (Vibrion septique, B. sporogènes, B. putrificus) sont seuls les vrais responsables des phénomènes gangréneux. Le B. perfringens, que j'ai toujours trouvé dans les gangrènes que j'ai étudiées, que j'ai trouvé souvent seul, me paraît avoir une importance primordiale. Ce microbe est la cause de phénomènes gangréneux particuliers, souvent très précoces, très violents, s'opposant aux phénomènes gangréneux, tardifs et lents, causés par les microbes anaérobies sporulés. Ce sont surtout ces gangrènes tardives qui ont été étudiées, bactériologiquement, dans les hôpitaux éloignés de la ligne de bataille.

Je montre enfin, en plein accord avec tous les bactériologistes, l'action très nuisible des cocci et en particulier du Streptocoque sur l'évolution de la gangrène.



Dans nos essais de sérothérapie, nous avons employé, quelquefois à de très hautes doses, les sérums antiperfringens antivibrion septique, antioedèmatiens de l'Institut Pasteur et aussi les serums polyvalents allemands (prise de guerre). Nous apportons des cas fort nets de guérison inespérée, mais nous avons subi aussi des échecs indiscutables.

Quoiqu'il en soit, alors que les statistiques, avec traitement chirurgical seul, donnent un pourcentage de 39 morts sur 100 cas de gangrène, notre pourcentage de morts, avec sérothérapie préventive et curative, s'abaisse à 25 % et même à 16 % à une période où le travail de l'ambulance s'effectuait dans un calme favorable.

Ma thèse contient en outre un certain nombre d'études de plaies du poumon. Ici, l'évolution des microbes anaérobies se fait lentement et les symptômes morbides, plus tardifs, sont bien différents des symptômes constatés dans les gangrènes musculaires.

c) - Etude bactériologique de quelques microbes.-

J'ai mis en évidence, dans les plaies, un certain nombre de microbes peu connus, qui ont été étudiés au retour de la guerre. Ont été isolés, ainsi, plusieurs microbes sporulés non décrits, voisins des B. mesentéricus et B. mycoïdes... Ces microbes présentent un véritable intérêt, car leur aspect dans les plaies rappelle celui des microbes anaérobies véritables agents de la gangrène. Notons que ces microbes aérobies sporulés n'apparaissent, dans les plaies, que dans la phase secondaire de l'évolution microbienne.

Le B. perfringens a enfin été étudié spécialement. Après avoir mis en évidence quelques unes de ses variations biologiques, et de ses variations morphologiques, j'ai montré qu'il offrait, dans certaines circonstances, une accoutumance relative à l'aérobiose. Malgré des essais répétés, je n'ai pu obtenir la sporulation de ce bacille.

II - STERILISATION DES SONDES

Ce travail effectué en 1919 au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Necker, en collaboration avec le Professeur Legueu et le Dr. Verliac, n'a été publié qu'en 1927, après la création par l'industrie et la mise en service des appareils fonctionnant suivant les résultats de notre étude.

La stérilisation des sondes usagées a toujours posé, dans les services d'urologie, un important problème. Des centaines de sondes sont contaminées chaque jour. Et il faut, sous peine d'encourir de lourdes charges budjétaires, les rendre stériles et de nouveau utilisables. On sait, et c'est ce qui en rend la stérilisation difficile, que les sondes en gomme ou en huile oxydée (linoleum) sont particulièrement fragiles. Elles ne résistent pas à une ébullition prolongée, et un grand nombre d'antiseptiques les altèrent rapidement.

De nombreux auteurs s'étaient attaqués à ce problème. On avait cru tenir la solution en utilisant pour la désinfection les vapeurs de formol. Des accidents nombreux montrèrent que cette stérilisation était inefficace. A notre tour, reprenant le problème à son origine, nous avons essayé de donner un résultat sûr et pratique.

Par une série d'expériences nous avons montré les points suivants: Le formol commercial dilué à 1% suffit à détruire, par un contact de 24 heures, tous les microbes des voies urinaires. Pourtant, des sondes usagées, bien que brossées et lavées soigneusement, ne peuvent être stérilisées par un séjour de 48 heures dans une solution de formol à 5 %. Contrairement aux auteurs précédents, nous basant sur nos expériences, nous n'avons pas incriminé les spores microbiennes. Nous avons pensé que les fragments d'albumine (pus), dissimulés sous les craquelures et aspérités des sondes, suffisaient, par leur coagulation au contact du formol, à protéger un certain nombre de microbes contre l'action désinfectante. Pour détruire ces débris d'albumine, après plusieurs essais, nous avons employé avec succès la digestion pepsique en milieu chlorhydrique. Puis, utilisant les ferments protéolytiques des microbes eux-mêmes, nous avons fait précéder le bain formolé par un séjour prolongé des sondes à 37°, dans une eau légèrement peptonée, ou mieux dans de l'eau pure. Après cette digestion microbienne, les albumines disparaissaient, un nettoyage parfait devenait très facile et la stérilisation par l'eau formolée devenait tout à fait efficace.

Les sondes ne sont pas altérées par ce procédé et leur emploi peut être, pendant longtemps, prolongé.



Les connaissances que nous pouvions avoir en Bactériologie et le désir que nous avions de diriger nos efforts vers les recherches pharmacologiques, nous amenèrent naturellement à aborder l'étude des médicaments antiseptiques.

Les méthodes, proposées pour mesurer l'activité d'une substance antiseptique, se bornent à rechercher les doses qui permettent aux milieux de culture de se maintenir stériles. Or, nous savons que des doses, souvent très inférieures, modifient déjà, et souvent dans un sens inattendu, la poussée microbienne. Nous ne voyons donc, par les méthodes habituelles, que le terme final d'une action progressive, ou même que l'aboutissement d'une série de phénomènes qui peuvent ne pas être toujours dirigés dans le même sens.

Pour définir les lois qui régissent l'antisepsie, il sera par conséquent nécessaire d'étudier l'influence des diverses doses du désinfectant, depuis les doses très faibles, à peine capables de gêner les microbes, (et qui peuvent même, pour certains corps, accélérer la multiplication), jusqu'aux doses fortes qui tuent les microorganismes. C'est ce but que je m'étais proposé d'atteindre.

Mais avant d'aborder cette étude, pour comprendre tout au moins les phénomènes antigénétiques, il fallait connaître la poussée microbienne normale.

Commencées avec la collaboration de Melle Lambin, continées avec l'aide de Mme Kaplan et de Mr. R. David, ces recherches sur la poussée microbienne, en milieu favorable, sont apparues fort intéressantes, mais aussi fort longues. C'est pourquoi, pressé par ailleurs d'aborder la question des antiseptiques, renonçant pour l'instant à la traiter avec toute l'ampleur dont elle est justiciable, j'ai, avec l'aide de Melle Lambin, abordé directement, dans ces dernières années, la mise au point précise des techniques des mesures antiseptiques ordinaires, basées, comme nous le disions plus haut, sur l'effet infertilisant ou stérilisant brutal des hautes doses.

J'espère pouvoir, dans les années qui viennent, reprendre les idées émises plus haut, et étudier, par des numérations microbiennes répétées et effectuées selon des techniques diverses, l'influence de doses croissantes d'antiseptiques sur la poussée des microbes ou sur leur vitalité. Je vais exposer d'abord les recherches qui ont été faites pour suivre l'évolution numérique d'une poussée microbienne normale. Je présenterai ensuite les travaux effectués pour rendre plus précises les mesures des activités antiseptiques.

III - ETUDE NUMERIQUE DE LA MULTIPLICATION MICROBIENNE DANS UN MILIEU DE CULTURE LIQUIDE.

Pour étudier la multiplication microbienne normale, nous avons été amenés à mettre au point des techniques de numération des bactéries basées sur deux principes différents, et donnant dans une même culture les nombres des microbes de catégories différentes : par la première, modification de la technique de WRIGHT, on estime au microscope le nombre relatif des éléments microbiens et de globules de fortes dimensions (hématies ou levures) dont le taux est connu. Un simple calcul donne la teneur en microbes par unité de volume. Par cette méthode, on atteint le nombre total des bactéries visibles. C'est à-dire des microbes "morts" et des microbes "vivants".

Par la seconde de ces méthodes, mise au point précise de la méthode classique de numération des colonies sur les plaques de gélose, nous connaissons un nombre des microbes capables de se multiplier après transport sur un nouveau milieu.

a) Influence de la grandeur de l'ensemencement (nombre de microbes) sur le rythme de la multiplication.

Dans une première période, nous avons, avec Melle Lambin, à l'aide seulement de la première technique de numération, suivi la multiplication à 37° d'un bacille pyocyanique dans un bouillon peptoné salé, préparé avec l'extrait de viande Liebig. Les résultats obtenus étaient fort réguliers, et pourtant différaient nettement des résultats obtenus par les autres auteurs. Ceux-ci en effet, signalaient: une première phase, d'une durée de 2 ou 3 heures, où la multiplication était d'abord lente puis vive (phase de latence); une deuxième phase, se prolongeant 7 à 8 heures, où la poussée se maintenait rapide et constante (phase de multiplication géométrique ou logarithmique); enfin, une troisième phase où la multiplication se ralentissait progressivement et aboutissait à un maximum vers la 30° ou la 48° heure, (phase de multiplication ralentie). En considérant nos résultats, il apparaissait que nous entrions d'emblée dans la deuxième de ces phases.

Cette suppression de la phase de latence nous apparut fort intéressante à étudier. C'est ce qui fut fait, avec la collaboration de Mme Kaplan. Les résultats de ces recherches vont être incessamment réunis et présentés comme thèse de Doctorat en Pharmacie par notre collaboratrice.

Dans ces dernières études, effectuées cette fois en utilisant les deux techniques de numération microbienne, plusieurs faits importants nous sont apparus. Nous étions partis de l'idée logique que la suppression de la phase du début était

due à l'importance du nombre de microbes que nous ensemencions (10 millions par cm3). Nous fîmes donc varier, en plus et en moins, le nombre de ces germes, et nous constatâmes que la phase de latence n'apparaissait, pas plus pour les petits que pour les grands nombres, quand on utilisait la méthode de numération microscopique. Par contre, elle se montrait régulièrement très nette quand on se servait, pour compter les microbes, de la méthode de numération des colonies sur plaques de gélose, méthode classique utilisée par tous nos prédécesseurs.

De ces constatations et de la comparaison des chiffres donnés par des deux méthodes de numération, il semble que l'on puisse déduire les conclusions suivantes: Dès l'ensemencement des germes dans un milieu liquide favorable, porté à une température convenable, la multiplication microbienne commence. Mais, pendant les 2 ou 3 premières heures il ne se produit que des organismes "faibles", pouvant fort bien se multiplier dans un milieu liquide où les conditions de nutrition sont très favorables, mais qui sont incapables de résister à un transport et à un réensemencement sur milieu solidifié. Vers la troisième heure seulement, se produisent des éléments normaux, "résistants", qui, eux, sont capables de se reproduire sur plaques de gélose. Pendant toute la phase de multiplication logarithmique se forment, en majeure partie, ces éléments "résistants" puis leur multiplication se ralentit très vite, et il ne se forme bientôt plus (30° heure) que des éléments affaiblis qui finissent eux-mêmes, vers la 48° heure, par ne plus se reproduire.

Ces résultats apparaissent nettement si l'on suit heure par heure, le rapport des éléments "résistants" aux éléments totaux: Nous voyons par exemple, pour un ensemencement de 250.000 germes par centimètre cube, le rapport se modifier de la façon suivante :

à 0 heures	0,3
à 2 -	0,04
à 4 -	0,1
à 6 -	0,3
à 8 -	0,4
à 10 -	0,4
à 12 -	0,13
à 14 -	0,12
à 16 -	0,11
à 18 -	0,11
à 20 -	0,10

Ces constatations diminuent donc très fortement l'intérêt de la phase de latence, qui a suscité de si nombreux travaux à l'étranger et soulevé tant de controverses. Elles s'accordent parfaitement avec les observations de quelques auteurs améri-

-cains, observations que nous avons faites à notre tour, d'après lesquelles les bactéries présentent une faible taille pendant les premières heures, s'allongent fort nettement, (jusuq'à 3 fois) pendant la phase logarithmique, puis reprennent en majorité dès la fin de cette période (dès la 10° heure) une taille réduite.

Ces modifications morphologiques normales, qu'il ne faut pas confondre avec celles qui apparaissent dans les bouillons usés, rapprochées des constatations numériques que nous avons faites, semblent prouver qu'il existe pour les colonies microbiennes, maintenues dans un milieu limité, de même que pour les organismes compliqués, une période de jeunesse, une période de maturité, et une période de caducité. Mais ces phases, au lieu de se succéder lentement, se suivent, tout au moins si l'on maintient la culture à 37°, avec une grande rapidité, si bien que l'évolution entière ne dépasse pas la durée d'un jour.

Il nous semble que ces résultats sont en eux-mêmes fort intéressants. Mais les conséquences pratiques en sont peut-être encore plus importantes. En effet, puisque notre but est par exemple, d'étudier les formes typiques des microbes, la résistance normale des bactéries aux antiseptiques, etc..., il est nécessaire de se demander si, en prélevant ces microorganismes indistinctement à toute heure après l'ensemencement, et de préférence après la 24° heure, notre but est bien réalisé. Il semble que le travail bactériologique habituel, réglé par le cycle solaire, peut ne pas réaliser les meilleures conditions pour l'étude des microbes. Il paraît probable qu'en s'astreignant à effectuer les prélèvements microbiens au meilleur moment de la poussée, à la période du déchainement euphorique, pourrait-on dire, de la multiplication, où les éléments "résistants" se forment en plus grand nombre, (c'est-à-dire au milieu ou à la fin de la période de multiplication logarithmique, vers la 10° heure), on aurait affaire aux éléments les plus beaux et les plus vigoureux de la culture (1). On obtiendrait peut être ainsi une sécurité dans les repiquages et une régularité de résultats, qui font trop souvent défaut. Ce sont ces points particulièrement importants pour l'étude des antiseptiques que nous nous proposons de vérifier.

---

(1) Remarquons que ces faits ont été trouvés en étudiant l'évolution microbienne dans un milieu de culture liquide (bouillon à l'extrait de viande Liebig). Il convient donc de vérifier s'ils se produisent semblables et aux mêmes heures, pour les cultures sur milieux solides, très souvent utilisées pour la conservation des souches bactériennes.

Outre ces constatations Mme Kaplan apportera dans sa thèse d'autres résultats intéressants dont nous pouvons donner ici quelques uns.

En tenant compte de l'accroissement du nombre des microbes, et du temps nécessaire à cet accroissement, on peut calculer la durée d'une bipartition (temps de génération). Cette durée nous renseigne parfaitement sur la marche de la multiplication. Nous avons constaté que, quelque soit le nombre des microbes ensemencés, les temps de génération les plus typiques, c'est-à-dire ceux qui règlent le rythme de la multiplication en période logarithmique, sont toujours plus faibles quand on utilise la méthode des plaques de gélose, que lorsqu'on utilise la méthode de numération microscopique. Ceci revient à dire que les microbes "résistants" se multiplient plus vite que les microbes "faibles", ce qui ne saurait nous étonner.

Enfin, quand on augmente le nombre des microbes ensemencés, on constate que la période logarithmique continue à se produire même pour des chiffres d'ensemencement très grands, mais que, à partir d'un certain nombre, les temps de génération deviennent, dans cette période, de plus en plus longs. Ce phénomène inattendu est tout à fait curieux; il se retrouve aussi bien par la méthode des plaques que par la méthode microscopique.

Les choses se passent comme si les microorganismes, se rendant compte eux-mêmes de leur nombre très élevé, se restreignaient dans leur multiplication pour que la colonie puisse subsister le plus longtemps possible.

b) Influence de la qualité et de la quantité des matières nutritives sur la marche de la multiplication microbienne.

Avec R. David, nous avons cherché à résoudre un autre problème, que pose encore la question de la multiplication microbienne. Nous avons cherché à savoir jusqu'à quel point la qualité et la quantité des substances nutritives, mises à la disposition des microbes, influait sur la marche de la multiplication et sur le nombre maximum des microbes formés. Nous avons donc préparé, suivant les techniques classiques, divers milieux de culture liquides (eau peptonée, macération de viande, bouillon ordinaire, bouillon Liebig, bouillon Martin...) et nous avons étudié la poussée microbienne dans ces différents milieux, toutes les autres conditions étant constantes, en utilisant les deux méthodes de numération des microorganismes dont nous avons parlé. Possédant ainsi les courbes de poussée caractéristiques de chacun des milieux à l'étude, nous avons rapproché ces données de la teneur de

ces milieux en éléments métalloïdiques (Carbone, Azote sous différentes formes, Phosphore total et phosphore minéral. Soufre et Chlore) et de la diminution de ces éléments après l'action des microbes. Nous espérons pouvoir compléter plus tard ces recherches par l'étude de l'influence sur le croît microbien des corps métalliques tels que le Potassium, le Fer et le Magnésium etc... Les résultats obtenus dans ces premières recherches paraîtront d'ici peu dans la thèse de Doctorat ès-Sciences de R. David. Ils sont, en partie, les suivants :

Tous les résultats déjà cités à propos du travail de Mme Kaplan sont confirmés. Des faits nouveaux sont apportés: il apparaît que la grandeur de la multiplication microbienne ne dépend pas autant qu'on pourrait le croire de la quantité de matières nutritives mises à la disposition des microorganismes. Des milieux très peu chargés en aliments, comme l'eau peptonée, donnent un chiffre maximum (méthode des plaques) de 3 milliards 800 millions, alors que des milieux tout à fait riches, comme le bouillon Liebig, donnent seulement un chiffre maximum de 5 milliards 500 millions.

De même, que le milieu soit très riche ou relativement pauvre, le rythme de la multiplication et la vitesse de bipartition sont peu modifiés (les temps de génération pour la période logarithmique, obtenus par la méthode des plaques, sont pour l'eau peptonée de 36 minutes et pour le bouillon Liebig de 39 minutes. Les maxima sont atteints, d'autre part, à la température de 37°, presque tous dans le même temps, vers la 48° heure (méthode des plaques), et vers la 60° heure (méthode microscopique). Pour le bouillon Liebig, toutefois, conformément au travail de Mme Kaplan, ces maxima se produisent un peu plus tôt (30ème et 48ème heure). On peut donc dire qu'il est la plupart du temps inutile et même nuisible, si l'on se borne bien entendu à rechercher une multiplication microbienne normale, d'avoir recours à des milieux très compliqués ou très chargés de matières nutritives. Les milieux simples (tels que la macération de viande, sans peptone ni sel, bouillon simple de Grimbert), économiques et faciles à préparer sont à recommander.

Des chiffres fournis par l'analyse chimique, tant dans les milieux avant l'ensemencement, que dans ces mêmes milieux ayant subi, pendant 48 heures à 37°, la poussée microbienne, (élimination des microorganismes par filtration à la bougie, avec vérification que les éléments chimiques ne sont pas eux-mêmes arrêtés), on peut tirer les conclusions suivantes :

Les différents milieux étudiés présentent au départ des teneurs fort différentes en substances nutritives. Si nous nous bornons à donner par litre et en grammes la teneur en chaque élément du milieu le plus riche et du milieu le plus pauvre, nous avons :

pour le Carbone (eau peptonée 4,30. b. Liebig 12,57), Azote total (eau peptonée 1,51, b. Liebig 4,08), Azote ammoniacal (eau peptonée 0,06, b. Liebig 0,15), Azote aminé (macération de viande 0,24, b. Liebig 0,73), Phosphore (eau peptonée 0,058, b. peptoné salé 0,546), Soufre (eau peptonée 0,057, b. Liebig 0,16), Chlore minéral en Nacl (macération de viande 0,73, b. Martin 7,92).

Aucun de ces milieux ne renferme une proportion dosable de glucose.

Si nous tenons compte maintenant des quantités des éléments utilisées par les microbes, nous constatons que la perte, après la 48° heure de la poussée, au moment où la multiplication va s'arrêter, est toujours relativement minime. Ainsi, il y a, en tenant compte des chiffres extrêmes, une diminution par litre et en gramme de :

pour le Carbone (0,24 dans l'eau peptonée, 0, 90 dans le b. Liebig), pour l'Azote total (0,213 dans l'eau peptonée, 0,339 dans le bouillon peptoné salé), pour le Phosphore (0,031 dans l'eau peptonée, 0,074 dans la macération de viande), pour le Soufre (0g,003 dans l'eau peptonée et 0,04 dans le bouillon Liebig). Pour le Chlore nous n'avons pas pu mettre en évidence de diminution.

Nous pouvons donc conlure de ces résultats que l'arrêt de la multiplication n'est pas dû à l'épuisement du milieu, tout au moins si l'on considère les éléments étudiés. Il se produit pourtant, du fait de la vie microbienne, certaines modifications de la qualité des matières nutritives, que le dosage par élément peut ne pas mettre en évidence. C'est ainsi que la teneur en Az aminé tend vers 0 et que l'Azote ammoniacal augmente fort nettement, (augmentation du pH de la culture de 7 à 8,4). Cette constatation du reste n'infirmerait en rien la conclusion précédente, puisque nous savons que l'ammoniaque est justement la forme assimilable de l'Azote pour les bactéries. Il apparaît de plus dans ces résultats que le carbone, l'Azote et le Phosphore jouent, comme on pouvait s'y attendre un très grand rôle dans le métabolisme microbien. Le rôle du Soufre est moins évident et le rôle du Chlore, dans les conditions de nos essais, paraît être fort réduit.

Il apparaît enfin, chose remarquable, que pour la formation d'un même nombre de microbes, les quantités disparues de Carbone, d'Azote et de Phosphore ne sont pas identiques pour tous les milieux. Il apparaît même que les rapports de ces quantités ne sont pas toujours voisins. Ainsi le coefficient Az/C, qui est toujours bien entendu plus petit que 1, varie de 0,24 pour le Liebig à 0,9 pour l'eau peptonée, pour la formation de 1 milliard de microbes capables de se multiplier sur gélose. Ces faits tiennent sans aucun doute à la variation,



bien des fois signalée, de la constitution chimique des bactéries. En effet, d'après certains auteurs, non seulement les microorganismes pourraient se charger d'eau en quantité plus ou moins grande (gonflement des membranes par exemple) suivant les conditions physico-chimiques du milieu, mais encore ils pourraient, d'une façon non négligeable, se mettre en équilibre, en quelque sorte, avec le milieu où ils sont plongés. Ils pourraient ainsi absorber un excès d'éléments utiles et même fixer des éléments inutiles à leur vie.

Ces idées pourraient, dans une certaine mesure, recevoir une confirmation dans notre travail. C'est ainsi qu'il semble, pour presque tous les milieux, disparaître d'autant plus de carbone que la teneur en cet élément est plus grande.

Signalons, pour terminer, que la multiplication du B. pyocyanique en milieux synthétiques paraît être inférieure à la multiplication dans les milieux ordinaires naturels: la multiplication à 37° est très lente, (phase de latence pour les éléments "résistants", d'une durée de 6 à 22 heures; temps de génération, à la phase logarithmique, pour ces mêmes éléments, de 120 minutes), et les maxima sont relativement peu élevés (pour le milieu de Liot : 1 milliard 300 millions capables de se reproduire sur gélose; pour le milieu d'Aubel, seulement 650 millions).

IV - TECHNIQUES DE MESURE DES POUVOIRS ANTIMICROBIENS.

Les anciens auteurs, parmi lesquels nous devons citer en premier lieu Miquel, pensaient qu'il était possible d'exprimer, pour chaque substance antiseptique, sa valeur, vis à vis d'un microbe donné, par un chiffre qui était la dose exacte permettant aux milieux de culture de se maintenir stériles. Ils ont donc ainsi, et spécialement pour les activités infertilisantes, exprimé le pouvoir anti-microbien en valeur absolue. Plus tard, d'autres bactériologistes ont pensé qu'il était plus commode de donner des valeurs relatives, et ils ont choisi comme terme de comparaison les doses antimicrobiennes du phénol (méthode anglaise du coefficient phénol).

Cette dernière technique pourrait représenter un progrès réel si elle était appliquée non seulement avec l'idée de donner une expression plus commode, mais encore avec le souci de régulariser les résultats. Ainsi, si l'essai phénolique était recommencé à chaque expérience, le coefficient phénol pourrait, dans une certaine mesure, servir à éliminer les causes d'erreur dues aux variations dans la qualité (vitalité différente) et dans la quantité des microbes mis en expériences. Mais il ne semble pas qu'il en soit toujours ainsi. De plus, le phénol possède des propriétés antiseptiques très particulières, telles que le peu d'activité, fait bien connu, sur les microbes du groupe Coli. Pour ces raisons, et d'autres encore, il nous a semblé nécessaire de revenir aux conceptions des anciens auteurs. Nous avons pensé qu'il fallait avant tout déterminer d'une façon tout à fait précise toutes les conditions de l'essai pour que la valeur indépendante obtenue soit suffisamment constante et absolument exacte. C'est ce que nous avons fait, avec la collaboration de Melle Lambin.

Dans toute réaction antiseptique, trois termes se trouvent en présence :

1° - La substance chimique, 2° - Les microbes, 3° - Le milieu où s'effectue la réaction.

Il est évident que ces termes doivent être tous les trois parfaitement définis. Il faut en particulier, ce qui a été trop rarement réalisé, déterminer la quantité et la qualité des microbes, et connaître la constitution chimique et les propriétés physico-chimiques du liquide intermédiaire.

Quantité des microbes.

Nous avons amené à un taux donné l'émulsion microbienne à mettre en présence d'une quantité donnée d'antiseptique. Les chiffres choisis sont suffisamment élevés pour atténuer autant que possible les variations individuelles des microbes.



Pour la numération, nous avons utilisé une méthode microscopique voisine de celle de Wright. La méthode microscopique (ou toute autre méthode non basée sur la numération des colonies) paraît être seule utilisable pour le but que nous poursuivons. Elle a cependant le grand inconvénient de dénombrer en même temps les microbes morts et les microbes vivants, et elle oblige à agir de telle sorte que la proportion relative des deux catégories soit sensiblement constante.

Qualité des microbes.

Nous nous sommes adressés à des microbes entretenus par passage sur bouillon gélosé incliné. Les prélèvements pour l'essai étaient faits à la 24° heure de la poussée, après incubation à 37°. Malgré les précautions prises, la vitalité microbienne, et par conséquent la résistance à l'action antiseptique, variait parfois suffisamment pour que les résultats en fussent nettement influencés. Nous avons l'intention d'approfondir plus tard ce point particulier, qui est à notre avis tout à fait important.

Milieux intermédiaires.

Pour les définir nous avons particulièrement tenu compte de leurs qualités physiques, notamment du pH et de leur teneur en substances nuisibles à l'action antiseptique (albumines ou autres substances organiques, matières salines, etc...)
Nous avons employé trois sortes de milieux intermédiaires :
1° - eau tridistillée de pH: 6,0 - 6,2.
2° - eau salée à 8°/oo de Chlorure de Sodium.
3° - eau salée additionnée d'un égal volume de liquide d'ascite, ce qui correspond à une teneur en albumine de 20gr °/oo.

Enfin, pour la mesure du pouvoir antibiotique, nous avons défini la durée de l'action antiseptique; ce temps a été choisi assez court (15 minutes) pour les microbes non sporulés; on se trouve ainsi dans les conditions ordinaires de la pratique.

La température de l'essai a toujours été voisine de 18° à 20°.

Détermination du pouvoir antigénétique - (infertilisant ou antiseptique proprement dit).

Des tubes de bouillon peptoné salé, de formule ordinaire et de pH 7, sont ensemencés, avec l'émulsion microbienne titrée, de telle sorte qu'il y ait finalement en suspension 10 millions de germes par centimètre cube.

Des quantités croissantes de la solution antiseptique sont alors ajoutées. Les tubes sont capuchonnés et placés pendant 15 jours à la température constante de 20°, (afin d'éviter le départ des substances volatiles), puis durant 4 jours à l'étuve à 37°.

Nous considérons, comme représentant le pouvoir antigénétique, la dose qu'il suffit d'ajouter à un litre de bouillon de culture pour empêcher la poussée d'un nombre connu de germes (10 millions par centimètre cube).

Détermination du pouvoir antibiotique -(-bactéricide ou désinfectant proprement dit).

On calcule les quantités de suspension microbienne, à ajouter au milieu intermédiaire additionné de l'antiseptique en quantités croissantes, de telle sorte que 500 millions de germes soient finalement mis en suspension dans un centimètre cube du mélange. Après un quart d'heure de contact à une température de 18° à 20°, un dixième de centimètre cube de ce mélange est transporté dans 5 centimètres cubes de bouillon peptoné salé, identique à celui utilisé pour l'essai précédent. Ce bouillon est alors mis pendant quatre jours à l'étuve à 37°.

Le nombre des microbes de la subculture est donc de 10 millions par centimètre cube. L'essai final de la mesure du pouvoir antibiotique est, par conséquent, tout à fait semblable à celui effectué pour la détermination du pouvoir antigénétique. Ceci a pour but de rapprocher, d'une façon valable, de la dose antigénétique la très petite quantité d'antiseptique transportée, en même temps que les microbes, dans la subculture. Il est évident que la quantité transportée doit être tout à fait inférieure à la quantité antigénétique; d'autant plus que les microbes déjà traités par l'antiseptique peuvent présenter, même s'ils ont résisté, une diminution de leur pouvoir de multiplication. (1).

---

(1) - Pour l'iode, le pouvoir antigénétique vis-à-vis du staphylocoque doré est de 0,27; la dose transportée, pour l'essai antibiotique en eau distillée, dans un litre de subculture, dose qui correspond au 1er tube où se produit l'arrêt de la multiplication est de 0,0004. - Pour le Chlore, ces doses sont respectivement 0,26 et 0,0001. - Pour le Brome 0,68 et 0,0009 - Pour le sublimé 0,10 et 0,0003. Cependant, pour les corps peu antibiotiques et pour ceux qui sont peu genés dans leur action antiseptique par l'albumine, la différence est bien plus faible. Par ex: pour le phénol, nous avons 2 et 0,20, et pour le thymol 0,10 et 0,01. Il nous faudra donc, en particulier pour ces derniers corps, essayer de résoudre, d'une façon tout à fait correcte, ce problème très important.

Nous considérons donc, comme représentant le pouvoir antibiotique, la dose du produit qu'il suffit d'ajouter à un litre d'un milieu déterminé (eau, eauphysiologique, eau albumineuse......) pour tuer en quinze minutes un nombre connu de germes. (500 millions par centimètre cube).

Ces techniques nous ont donné des résultats d'une constance suffisante. Nous donnons ci-dessous, à titre d'exemples, quelques uns des chiffres obtenus dans plusieurs essais successifs :

Pouvoirs antibiotiques vis-à-vis du Staphylococcus aureus.

Eau iodée (I 1%, KI 2%); milieu intermédiaire: eau physiologique.
en iode: 0,034 - 0,030 - 0,030 - 0,025.

Eau à l'iode naissant (KI, IO_3K, acide tartrique) milieu intermédiaire: eau physiologique
en iode naissant: 0,030 - 0,030 - 0,030 - 0,028 - 0,023.

Eau de Chlore; milieu intermédiaire: eau distillée
en Cl : 0,010 - 0,007 - 0,005.

Liq. de Dakin; milieu intermédiaire: eau distillée.
en Cl : 0,009 - 0,008 - 0,004 - 0,0035.

Liq. de Labarraque; milieu intermédiaire: eau distillée.
en Cl : 0,005 - 0,005 - 0,003.

Eau de Brome; milieu intermédiaire: eau distillée.
en Br: 0,075 - 0,037 - 0,037 - 0,036.

Bichlorure de Mercure: milieu intermédiaire: eau distillée:
0,025 - 0,024 - 0,015 - 0,015.

Phénol; milieu intermédiaire: eau distillée :
12 - 11 - 11.

Les chiffres moyens que nous présenterons dans nos tableaux ont donc une réelle valeur. Nous avons étudié l'action antigénétique et antibiotique de nombreux corps antiseptiques vis-à-vis de microbes divers: Staphylocoque doré, Bacille diphtérique, B. coli, B. typhique, B. paratyphiques A et B, B subtilis sporulé. (Pour ce dernier microbe, en raison de la résistance des spores, nous avons modifié quelque peu nos techniques).

De nombreux résultats ont été ainsi trouvés. Ils seront présentés dans peu de temps dans une thèse que soutiendra notre collaboratrice.

Parmi ces résultats, un certain nombre de faits sont déjà connus: action nuisible de l'albumine sur l'activité de la plupart des antiseptiques; faible action de l'albumine sur quelques désinfectants, comme le phénol et l'acriflavine; action nuisible du chlorure de sodium sur l'activité du sublimé... etc... Beaucoup d'autres faits sont, par contre, inédits: actions comparées des halogènes, actions des hypobromites et des hypoiodites, action de l'iode naissant... etc...



PHARMACOLOGIE.

1 - Etude des anesthésiques locaux.

Mes recherches dans cette voie ont été précédées par un travail chimique effectué au laboratoire de Mr. le Professeur Tiffeneau. Ce travail concernait les homologues d'un nouvel anesthésique local non benzoylé, du type :

$$\left(C^6H^5 - \overset{\displaystyle R}{\underset{\displaystyle OH}{C}} - CH^2 \right)^2 NH$$

Il est resté inédit en raison des difficultés rencontrées dans la préparation des homologues supérieurs. J'ai pu cependant préparer, outre le dérivé méthylé, le dérivé éthylé. Depuis, je me suis intéressé plus particulièrement à l'étude physiologique des anesthésiques locaux.

a) - Méthodes de mesure des pouvoirs anesthésiques.

Pour arriver à la synthèse de corps vraiment capables de remplacer la cocaïne, le chimiste doit être guidé par l'étude physiologique des corps qu'il prépare. Les essais physiologiques seront encore nécessaires pour obtenir une bonne application clinique des substances étudiées, (stérilisation, conservation des solutions, influence sur leur activité des conditions physiques ou chimiques, influence de corps adjuvants, comme l'adrénaline ou les sels de potasse... etc.)

Les anesthésiques locaux agissent différemment selon l'endroit du corps où ils sont appliqués. Tel anesthésique, très puissant s'il est introduit par injection dans les tissus, manifeste un pouvoir analgésique bien plus faible quand il est appliqué sur la muqueuse ou la cornée. D'autres corps présentent les propriétés inverses. Il faudra donc, pour étudier un corps nouveau, établir sa force anesthésique d'une part sur les troncs nerveux, d'autre part sur les terminaisons nerveuses. Des essais nombreux ont été faits dans ce sens par des auteurs presque tous étrangers. J'ai cru pourtant devoir présenter des méthodes nouvelles; elles reposent sur des techniques rigoureuses, utilisent, par exemple, pour la mesure de l'excitabilité des fibres nerveuses des procédés nouveaux (chronaxie) et, ainsi, elles apportent des résultats précis. La valeur de ces méthodes a été vérifiée par des expériences multiples.

Elles sont utilisées actuellement de façon courante



par un certain nombre de laboratoires français et par quelques laboratoires étrangers. (1)

Après avoir essayé, sans obtenir de résultats satisfaisants, de mesurer les anesthésies produites sur la points de la langue, j'ai mis au point un procédé de mesure des anesthésies produites sur la cornée. Ce procédé est basé sur le déclanchement du réflexe oculo-palpébral par excitations rythmées au moyen d'un crin fin. Il m'a permis de suivre l'évolution entière de l'expérience anesthésique. Il traduit, par des chiffres et par des courbes, non seulement la durée de l'analgésie, mais encore son intensité. Des comparaisons faites, à intervalles rapprochés, avec des solutions de titre connu de chlorhydrate de cocaïne, permettent d'estimer la valeur d'un produit par rapport à cells du chlorhydrate de cocaïne choisi comme type. Les essais de contrôle montrent une limite d'erreur inférieure à 20%, ce qui est acceptable pour une méthode physiologique.

Plus tard, en collaboration avec H. Cardot, j'ai abordé l'étude de l'action nerveuse sur les troncs nerveux. Les notions et techniques indiquées par L. Lapicque ont apporté une définition parfaite de l'excitabilité du nerf, avec un procédé rigoureux de sa mesure. Nous avons étudié, grâce à ce procédé, l'influence de l'anesthésique d'abord sur le tronc moteur, puis sur le nerf sensitif.

Cstte influence, pour l'un et pour l'autre appareil, est marquée, ce qu'avaient déjà vu Lapicque et ses élèves, par des variations en sens inverse des deux paramètres de l'excitabilité: rhéobase et chronaxie. Nous avons essayé de transformer ces données qualitatives en méthodes pratiques pouvant servir à l'estimation des forces anesthésiques.

---

(1) Certains de ces laboratoires ont procédé à toute une série de vérifications qui se sont montrées favorables à l'emploi de nos tschniques. (Par exemple: L. Salazar, de l'Institut de Pharmacologie de l'Université royale de Cagliari Italis: "Sull' anestesia corneale da psicaina determinata col procedimento di J. Regnier, Arch. int. de Pharm. et Ther. t. 34, p. 188, 1928).
J'ai eu, d'autre part, très récemment, la satisfaction de voir un pharmacologiste allemand connu, spécialisé depuis longtemps dans l'étude des anesthésiques locaux, ~~manifester le désir de~~ venir à Paris pour se mettre au courant de ces techniques.

Nous avons utilisé, pour l'étude de la conductibilité motrice, les fibres motrices du sciatique de Rana esculenta, en prenant comme test le mouvement du muscle gastrocnémien. Pour l'étude de la conductibilité sensitive, nous avons agi sur les fibres sensitives du même nerf avec comme test les mouvements des doigts de la patte opposée. Nous nous sommes attachés à suivre la variation de la chronaxie. Cette variation est en effet bien plus régulière que celle de la rhéobase, et bien plus régulière encore que les variations du temps nécessaire pour atteindre l'inexcitabilité, temps généralement choisi comme test par les auteurs cités plus haut. Après avoir constaté que la chronaxie sous l'influence anesthésique s'abaissait jusqu'à un minimum variable selon les doses, et remontait ensuite, nous avons déterminé la loi de variation de cette baisse minima en fonction de la teneur des solutions en chlorhydrate de cocaïne. Cette loi s'exprime, aussi bien pour les nerfs sensitifs que pour les nerfs moteurs, par une courbe régulière, tendant en s'élevant à devenir pour les doses élevées parallèle à l'axe des abcisses.

Plus récemment, avec la collaboration de G. Valette, nous avons appliqué les mêmes principes à l'étude de l'influence des anesthésiques locaux sur les fibres sensitives du nerf lingual du chien. D'une part, en effet, il nous paraissait utile d'essayer les substances anesthésiques non plus sur des animaux à sang froid, mais sur des animaux de constitution voisine de la constitution humaine; d'autre part, il était tout à fait indiqué de s'adresser à un nerf sensitif non itératif, c'est-à-dire capable, contrairement aux fibres sensitives du sciatique, de répondre à une seule excitation. Nous réalisions, ainsi, des conditions plus favorables à l'exactitude de l'essai, et en même temps moins onéreuses, par simplification de la technique. Cette méthode s'appuie sur le déclanchement du réflexe linguo-maxillaire (découvert récemment par H. Cardot et H. Laugier) dont le nerf lingual est la voie sensitive. Les résultats obtenus ont été très réguliers, et nous avons pu construire, pour la variation de la baisse de la chronaxie en fonction des doses de cocaïne, une troisième courbe de même forme que les deux précédentes.

Pour connaître la force anesthésique d'un produit sur telle ou telle catégorie de fibres nerveuses, il suffit donc de trouver les doses qui provoquent une baisse de chronaxie figurant sur la partie favorable de la courbe correspondante. Par un calcul très simple, on en déduit la force anesthésique de la substance étudiée par rapport à celle du chlorhydrate de cocaïne.

Des expériences de contrôle ont été faites pour estimer l'exactitude de ces méthodes. La méthode, proposée pour l'étude de la conductibilité motrice, a donné une limite d'erreur de

35 %. Cette erreur est manifestement plus forte qu'elle ne devrait être; ceci provient, sans conteste, du manque d'habitude que nous avions, au début de nos essais, de l'utilisation de techniques délicates. Les méthodes pour l'étude de la conductibilité sensitive, sur la grenouille et sur le chien, donnent une erreur inférieure à 20 %. Ceci confirme donc ce que nous venons de dire, car ces dernières techniques sont encore plus délicates que la technique utilisant le nerf moteur; mais elles ont été mises au point, et vérifiées, après une expérience de plus de deux ans.

Ayant en main ces quatre méthodes d'essai, s'adressant à tous les appareils nerveux susceptibles d'être atteints dans la pratique, (terminaisons nerveuses des muqueuses, fibres motrices et fibres sensitives), j'ai abordé l'étude d'un certain nombre d'anesthésiques locaux de synthèse, anciens et nouveaux, et j'ai cherché certaines des conditions nécessaires pour obtenir avec un anesthésique donné (chlorhydrate de cocaïne) le maximum d'anesthésie.

b) Etude des anesthésiques locaux de synthèse.

1° - Série de la benzhydrylamine.

Guidés par leurs travaux, Messieurs Fourneau et Tiffeneau entreprirent avec leurs élèves, dès 1919, la préparation de corps anesthésiques ne possédant plus le radical benzoyl.

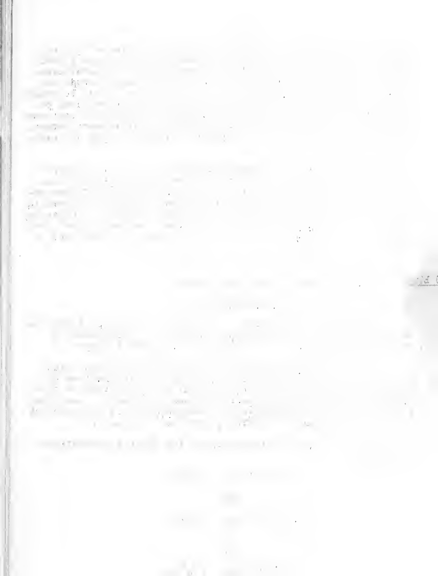
Après de nombreux essais, tels que celui rapporté plus haut, où je me suis heurté à de très grandes difficultés chimiques, ces auteurs envisagèrent la préparation d'amines simples contenant un nombre élevé d'atomes de Carbone. Leur choix se porta sur les benzhydrylamines substituées, et spécialement sur les alcoxy-benzhydrylamines, faciles à préparer.

Ces corps sont construits selon les figures schématiques suivantes :

$$RO - C^6H^4 - \underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{CH}} - C^6H^5$$

$$\begin{matrix} R'O \\ RO \end{matrix} \big\rangle C^6H^3 - \underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{CH}} - C^6H^5$$

$$RO - C^6H^4 - \underset{\displaystyle NH^2}{\underset{|}{CH}} - C^6H^4 - OR'$$



Ils furent essayés d'abord sur la cornée puis sur le nerf moteur. On étudia en outre le pouvoir irritant et le pouvoir toxique. Les résultats figurent dans les thèses de Doctorat en Pharmacie de P. Sallé et de G. Valette, et dans les notes de C. Torrès. Ils ont été présentés au Congrès de Physiologie de Stockolm en 1926 par Messieurs Fourneau et Tiffeneau.

J'ai effectué depuis, avec G. Valette, d'autres essais. Nous avons étudié notamment le pouvoir anesthésique sur le nerf sensitif, mesurant le pH des solutions et leur tension superficielle. Ces résultats d'ensemble seront publiés incessamment. D'autres travaux les complètement. Voici les conclusions que l'on peut porter actuellement sur cette question :

Pouvoirs anesthésiques : Le chlorhydrate de benzhydrylamine est doué de propriétés anesthésiques locales. Les chlorhydrates de benzhydrylamines alcoxylées sont doués de propriétés anesthésiques locales nettement plus marquées. Si nous comparons l'influence de la position du groupe substituant dans les dérivés monoalcoxylés, nous voyons que le dérivé le plus favorable est pour la cornée le dérivé méta, alors que pour les nerfs sensitifs et moteurs, c'est le dérivé ortho.

Pour les dérivés monoalcoxylés de la série méta, le pouvoir anesthésique croît régulièrement avec le poids moléculaire de R. Cet accroissement est très rapide pour l'anesthésie de la cornée; il atteint pour le corps métabutyloxybenzhydrylamine une force 17 fois plus grande que celle du chlorhydrate de cocaïne.

Le pouvoir anesthésique sur le nerf moteur croît moins vite; le corps cité plus haut est sur cet appareil nerveux, 8 fois plus actif que le chlorhydrate de Cocaïne. Le pouvoir anesthésique sur le nerf sensitif croît encore plus lentement puisque le même corps est seulement 1,7 fois plus actif.

Les dérivés ramifiés présentent, dans les trois cas, des forces nettement inférieures à celles des corps normaux. Les doubles substitutions, non favorables quand elles sont faites dans le même noyau, deviennent avantageuses, tout au moins pour les premiers termes, quand elles portent sur des noyaux différents. Il n'y a pas d'intérêt à remplacer dans les groupements substituants les alcools gras par les alcools aromatiques.

Pouvoirs irritants et toxiques. Toutes les benzhydrylamines étudiées possèdent des propriétés plus ou moins irritantes. Leur toxicité reste assez stable; elle est de 2 à 4 fois plus grande que celle du chlorhydrate de cocaïne.

Relations entre le pouvoir anesthésique et les propriétés physiques

Il ne semble pas exister de rapport direct entre les pouvoirs anesthésiques des sels de benzhydrylamine et leur solubilité dans l'eau.

Les solutions aqueuses de ces sels ont un pH compris entre 5,4 et 6,6. Il ne paraît pas exister de relation tout à fait constante entre le pouvoir anesthésique et les pH des solutions aqueuses. Dans certaines séries, cependant, les pH augmentent légèrement avec les pouvoirs anesthésiques.

Si l'on compare, dans une série donnée, les pouvoirs anesthésiques aux tensions superficielles, on constate un parallélisme net entre la diminution de la tension superficielle et l'augmentation du pouvoir anesthésique.

Il nous manque encore des renseignements importants tels que les rapports de solubilité des sels et des bases dans l'eau et les huiles; tels que les caractéristiques de l'adsorption de chacun de ces corps par le charbon et par les fibres nerveuses. Nous nous proposons donc de compléter notre travail, et de le rapprocher, pour ce qui est des résultats physiologiques, des conclusions qui seront données dans peu de temps pour l'étude pharmacologique de la série ortho, poursuivie au laboratoire de Mr. le Pr. Tiffeneau, par Melle J. Lévy et ses élèves.

Quoiqu'il en soit, il est intéressant de remarquer le fait suivant: le chimiste, dans les modifications qu'il peut faire subir à la structure d'une substance telle que la benzhydrylamine, n'est pas capable de prévoir les conséquences physiologiques qu'apporteront la plupart des modifications affectuées par lui. Seuls les essais qui ne transforment pas la configuration générale du corps, comme l'accroissement du nombre des atomes de Carbone du groupement substituant, lui permettent, dans certaines conditions, d'apporter, à coup sûr, une amélioration dans les propriétés physiologiques.

Il est curieux de constater que des propriétés physiques comme la concentration des ions H, et surtout la tension superficielle, suivent fidèlement les variations du pouvoir anesthésique. Peut-être n'y a-t-il là que des phénomènes concomitants? Peut-être y a-t-il cependant relation de cause à effet? Dans ce dernier cas; il serait naturel de penser que les modifications du pH ou de la tension superficielle, incapables de créer la propriété anesthésique, permettraient, par une fixation plus parfaite sur la cellule, une meilleure utilisation

de cette propriété, dont jusqu'à présent nous ne connaissons pas l'origine.

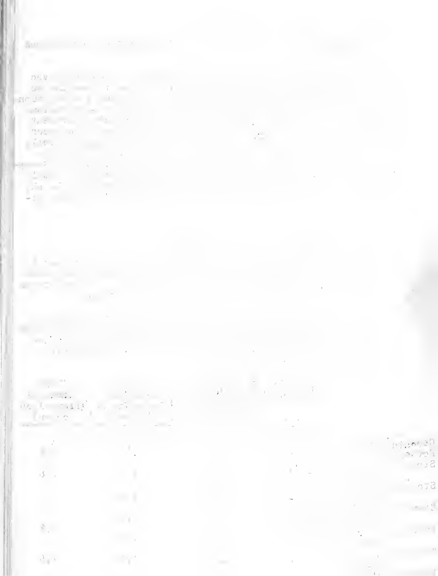
Dans les travaux plus récents, effectués toujours avec G. Valette, nous avons réussi à démontrer que la cocaïne se fixe sur les fibres nerveuses par un processus d'adsorption. Certes, cette constatation n'explique pas encore le mécanisme intime de l'acte anesthésique. Mais elle est dès à présent capable de jeter quelque lumière sur les remarques que nous faisions tout à l'heure à propos de la tension superficielle et du pH. En effet, d'une part nous savons que la tension superficielle joue un grand rôle dans les phénomènes d'adsorption, et, d'autre part, nous montrerons, nous mêmes, à quel point ces phénomènes d'adsorption sont influencés par le pH, et ceci d'autant plus qu'ils sont exercés par des tissus vivants.

2° - Anesthésiques locaux divers.

J'ai appliqué les quatre méthodes décrites plus haut à l'étude d'anesthésiques anciens et nouveaux. Ces expériences figurent dans ma thèse de Doctorat en Médecine, en même temps que les résultats trouvés par les auteurs étrangers.

Je donne ici simplement la valeur anesthésique moyenne, sur chacun des quatre appareils nerveux, des principaux corps étudiés. La valeur anesthésique du chlorhydrate de cocaïne est toujours prise comme unité. Les chiffres représentent les valeurs relatives pondérales.

	Cornée (lapin)	Nerf moteur (sciatique de la grenouille)	Nerf sensitif (sciatique de la grenouille)	Nerf sensitif (lingual du chien)
Cocaine (chlorh.)	1	1	1	1
Novocaine (")	0,07	5	0,7	0,8
Stovaine racémique (chlorh.)	0,11	3,1	1	0,8
Stovaine droite (chlorh.)	0,13	4,5	1,6	
Stovaine gauche (chlorh.)	0,10	3	0,3	
Butelline (Sulfate)	3,3			1,2
(chlorh.)		4,7	1,4	
Tutocaine (chlorh.)	0,6	1,2	1,1	1,5
Pseudocaine droite (chlorh)	0,8	20	2,6	3
Pseudocaine gauche (formiate)	0,8	26	2,2	



De l'examen de ces résultats, nous pouvons tirer, et donner ici, quelques conclusions choisies parmi les plus importantes:

1° - Les différences d'activité des diverses substances, et l'ordre dans lequel elles se classent, sont sensiblement les mêmes pour les deux nerfs sensitifs étudiés.

2° - Il n'en est plus de même lorsqu'on compare les résultats obtenus sur la cornée, sur le nerf moteur et sur le nerf sensitif; l'ordre dans lequel se classent les diverses substances est, dans ce cas, tout à fait différent. Les trois appareils nerveux considérés réagissent, donc, de façons entièrement différentes vis-à-vis des mêmes substances.

Il en résulte que la division entre anesthésiques de surface et anesthésiques de conduction, faite par les auteurs étrangers, est juste mais insuffisante; il importe de préciser s'il s'agit d'une conduction centripète ou d'une conduction centrifuge. Il en résulte, en outre, que pour connaître le pouvoir anesthésique d'une substance on ne peut se borner à étudier son action sur le nerf moteur.

3° - Il est enfin intéressant de remarquer que, pour la cornée et le nerf moteur, il existe de très grandes différences d'activité entre les diverses substances; sur la cornée, la différence va de 1 à 47 et, sur le nerf moteur, elle va de 1 à 26. Pour les nerfs sensitifs, il y a peu de différence entre l'activité des corps étudiés. Pour le sciatique de grenouille, ainsi que pour le lingual du chien, la différence va seulement de 1 à 3,7.

c) Comparaison de l'activité des anesthésiques locaux, et en particulier du chlorhydrate de cocaïne, sur les différents troncs nerveux.

Nous avons dit qu'en portant en abcisses les doses de chlorhydrate de cocaïne pour 100 et en ordonnées les baisses de chronaxie pour 100, on obtient pour chaque nerf étudié (fibres motrices du sciatique de la grenouille, fibres sensitives du même nerf, fibres sensitives du lingual du chien) une courbe moyenne régulière. Ces courbes ont la même forme générale. Elles s'élèvent d'abord rapidement, puis de plus en plus lentement, et tendent à devenir parallèles à l'axe des X sensiblement au même niveau. La grandeur de la réaction n'est donc pas directement proportionnelle au taux du toxique étudié; et, comme nous l'avons déjà montré, pour chaque courbe il existe une zone favorable (baisses de chronaxie de 30, 40, 50 %) où une petite augmentation de la quantité du toxique entraîne une notable variation d'activité.



Il nous faut remarquer maintenant que ces courbes ne diffèrent que par leur étalement :

En rapprochant les doses qui, pour chaque courbe, donnent les baisses de chronaxie comprises dans la zone favorable, on voit que ces doses ne diffèrent les unes des autres que par un coefficient constant près. Il suffit, pour passer des chiffres, donnés par la courbe du nerf sensitif sciatique, à ceux donnés par la courbe du nerf sensitif lingual, ou à ceux donnés par la courbe du nerf moteur sciatique, de multiplier les premiers par 7 ou par 15. Le nerf sensitif sciatique de la grenouille est donc, pour le chlorhydrate de cocaïne, sept fois plus sensible que le nerf sensitif lingual du chien et quinze fois plus sensible que le nerf moteur sciatique de la grenouille.

Le fait, entrevu par quelques auteurs étrangers, mis en doute par d'autres, est donc définitivement acquis: les fibres sensitives sont nettement plus sensibles à l'action du chlorhydrate de cocaïne que les fibres motrices du même nerf. Il apparaît en outre que nos mesures, basées sur les techniques de L. Lapicque, ont donné des résultats fort réguliers. Ces résultats montrent enfin que c'est bien l'évolution du même phénomène qui a été suivie dans les trois cas, cas physiologiquement différents. Nous verrons tout à l'heure que ce phénomène régulier, selon lequel s'ordonnent les différents résultats physiologiques, exprime simplement, ce qui était à prévoir, la façon plus ou moins grande dont la cocaïne se fixe sur les fibres nerveuses, cette substance se fixant par un processus physicochimique d'adsorption.

Ces résultats, trouvés pour le chlorhydrate de cocaïne, ne sont pas valables pour tous les autres anesthésiques locaux étudiés : Alors que le chlorhydrate de cocaïne est 15 fois plus actif sur les fibres sensitives que sur les fibres motrices, le chlorhydrate de stovaine racémique 3 à 4 fois, le chlorhydrate de stovaine droite 4 à 5 fois, le chlorhydrate de butelline 3 à 5 fois, le chlorhydrate de tutocaine 10 fois. Quant au chlorhydrate de stovaine gauche, et aux chlorhydrate et formiate de pseudococaine droite, ils sont presque aussi actifs sur le nerf moteur que sur le nerf sensitif.

La différence d'activité, en faveur des fibres sensitives, est donc extrêmement variable. Elle varie non seulement quand on passe d'un corps à un autre de formule chimique complètement différente, mais quand on passe d'un corps à son isomère stéréochimique (chlorhydrate de cocaine et chlorhydrate de pseudococaine), et même quand on passe d'un corps à son isomère optique (chlorhydrate de stovaine droite et chlorhydrate de stovaine gauche).

Pour expliquer ces constatations, il semble que des hypothèses de nature anatomique ou physiologique soient insuffi-



-santes. Il semble que l'on puisse penser plutôt à une explication physioochimique du phénomène. Les fibres nerveuses sensitives et motrices, n'auraient pas tout à fait la même constitution physico-chimique, et de ce fait la faculté qu'elles possèdent de se combiner et de réagir à l'action des anesthésiques locaux varierait non seulement pour une même fibre, suivant la qualité chimique ou physico-chimique de ces corps, mais encore, pour un même corps, suivant la qualité motrice ou sensitive de la fibre.

Si nous comparons maintenant les différences d'activité sur les fibres sensitives du sciatique de la grenouille, et sur les fibres sensitives du lingual du chien, nous constatons les faits suivants: comme nous l'avons vu, le chlorhydrate de cocaïne est 7 fois plus actif sur les premières que sur les secondes; le chlorhydrate de novocaine l'est un peu plus de 5 fois; le chlorhydrate de stovaine racémique l'est un peu moins de 10 fois; la butelline l'est de 5 à 10 fois; le chlorhydrate du tutocaine l'est sensiblement 5 fois. Les corps étudiés sont donc régulièrement 5 à 10 fòis plus actifs qur le nerf sensitif sciatique qur sur le nerf sensitif lingual. Les différences sont, cette fois, de l'ordre des erreurs d'expérience. On peut donc admettre que l'action sur les deux nerfs sensitifs, est, sinon semblable, tout au moins parallèle. Les résultats relatifs trouvés pour l'un seront valables pour l'autre. Il est ainsi probable que les deux nerfs sensitifs ont même constitution chimique, et qu'ils ne diffèrent que par le nombre de leurs fibres ou encore par d'autres dispositions anatomiques ou physiologiques, comme par exemple, un mode d'accord avec les centres plus parfait pour le lingual, nerf non itératif.

d) Méthode de mesure des valeurs pratiques des anesthésiques locaux. Rachianesthésie chez le chien.

Les résultats fort nets, que nous venons d'exposer, ne nous paraissent cependant pas encore suffisants pour donner une idée exacte de la valeur anesthésique pratique des anesthésiques locaux. En effet, au laboratoire, sur les nerfs isolés, sans cesse imprégnés de solution anesthésique, nous mesurons le pouvoir anesthésique absolu de la substance. En clinique, par injection périnerveuse, d'autres facteurs interviennent. La circulation du sang et les échanges entre les tissus déplacent le toxique, et de plus se produisent des phénomènes mal connus, pourtant très importants, de destruction du toxique par les cellules mêmes de l'organisme. Ainsi l'anesthésie clinique peut elle être différente de ce que l'on était en droit d'attendre d'après les résultats trouvés au laboratoire.

C'est pourquoi, avec F. Mercier, nous avons voulu mettre au point une méthode de mesure des valeurs pratiques des anes-

-thésiques locaux. Pour cela, nous nous sommes adressés à la rachianesthésie chez le chien. Et, pour commencer, nous avons comparé, par cette méthode, les valeurs cliniques du chlorhydrate de cocaïne gauche ordinaire, et du chlorhydrate de pseudococaïne droite, ce dernier corps étant, comme nous le montrerons tout à l'heure, bien plus vite détruit par l'organisme que le premier.

Sur des chiens préalablement chloralosés, nous avons tout disposé pour enregistrer les variations de la pression artérielle et celles de la respiration, et nous avons injecté, entre les deux dernières vertèbres lombaires, la substance anesthésique locale en solution dans l'eau physiologique. Nous avons pris comme test de l'anesthésie (anesthésie complète) la suppression de toute réaction réflexe produite, sur la pression artérielle et sur le rythme et l'ampleur respiratoire, par une excitation faradique donnée, portée sur le bout central du nerf sciatique. Les excitations faradiques étaient faites régulièrement, toutes les 5 minutes, jusqu'au retour des phénomènes réflexes. Ainsi, nous avons pu, en tenant compte de la durée de l'anesthésie, comparer entre elles ces expériences.

Les résultats obtenus, par cette méthode, avec le chlorhydrate de pseudocaïne droite et avec le chlorhydrate de cocaine gauche sont tout à fait voisins :

Ainsi, à titre d'exemple, nous avons constaté que ces substances injectées à la dose de 0,01 à des chiens de poids voisin de 6 kgrs (soit 0,0015 par kgr) produisaient aussi bien l'une que l'autre une anesthésie complète d'une durée de 50 minutes.

Ces résultats ne sauraient nous étonner. En effet nous avons vu au laboratoire que le chlorhydrate de pseudococaïne droite est 2,6 à 3 fois plus actif sur les nerfs isolés (anesthésie absolue) que son isomère. Nous verrons tout à l'heure que l'organisme animal détruit, dans le même temps (toxicité lente), 2,5 fois plus de chlorhydrate de pseudococaïne droite que de chlorhydrate de cocaïne gauche. Il est donc naturel que ces phénomènes de sens contraire tendent à se neutraliser en clinique et que, par conséquent, l'anesthésie pratique devienne sensiblement la même pour les deux isomères.

Il faut donc que nous complètions tous les essais d'anesthésie absolue sur les nerfs isolés, que nous avons présentés plus haut, par des essais pratiques de rachianesthésie sur le chien, où l'anesthésie est produite sur les fibres sensitives lombaires absolument dans les mêmes conditions que celles qui sont réalisées dans l'emploi clinique.

Les résultats de ces recherches complémentaires, effectuées avec la collaboration de F. Mercier, seront présentés ultérieurement.

e) Toxicité comparée des anesthésiques locaux. Destruction différente par l'organisme animal/.

Nous avons dit plus haut que l'organisme animal était capable de détruire, mais avec une ampleur différente, les corps anesthésiques locaux injectés dans l'intérieur des tissus, et que cette action pouvait avoir une très grande importance, puisqu'ainsi se trouvaient modifiés les résultats obtenus sur les nerfs isolés.

Nous avons, pour mettre en évidence cette action, et pour avoir une idée de son ampleur, institué une série d'expériences sur les toxicités rapides ou lentes du chlorhydrate de cocaïne gauche, (cocaïne ordinaire) et du chlorhydrate de pseudococaïne droite.

Nos expériences ont été faites par voie intraveineuse sur le chien préalablement endormi au chloralose. Nous avons déterminé d'abord la dose léthale (c'est-à-dire la dose minima produisant la mort) en une seule injection, puis la dose léthale en espaçant les injections, de teneur plus faible, de minute en minute, enfin la dose léthale en espaçant ces injections de cinq en cinq minutes. De ces expériences nous pouvons tirer, en résumé, les conclusions suivantes :

Les deux corps ont, en injection unique, la même toxicité (0,025 par kgr). Mais si on les injecte à intervalle de 5 minutes, il faut pour obtenir la mort, en moins de 2 heures, atteindre une dose sensiblement 2 fois plus grande que la dose précédente pour la cocaïne gauche, $\frac{(0,055)}{(0,025)}$ et pour la pseudococaïne droite une dose sensiblement 5 fois plus grande, $\frac{(0,126)}{(0,025)}$.

Le chlorhydrate de cocaïne gauche est donc détruit de façon nette par l'organisme animal, mais son isomère, le chlorhydrate de pseudococaïne droite, est détruit, dans les mêmes conditions expérimentales, de façon beaucoup plus rapide (2,5 fois plus vite).

Ces résultats, comme nous l'avons vu, suffisent à expliquer les différences que nous avons trouvées en essayant les deux corps sur les nerfs isolés (anesthésie absolue), et en les essayant, dans les conditions normales de la clinique, sur animal entier (anesthésie pratique, rachianestésie sur le chien).

En outre cette destruction plus rapide pour le chlorhydrate de pseudococaïne droite, conditionnant une moindre toxicité si on laisse à l'organisme le temps de se défendre, fait prévoir que ce corps aura sur son isomère gauche, ordinairement employé, des avantages importants pour l'utilisation pratique. C'est ainsi que notre collaborateur a pu montrer que le chlorhydrate de pseudococaïne droite ne possédait pas le pouvoir stupéfiant du chlorhydrate de cocaïne ordinaire, et qu'il était même possible d'utiliser le premier de ces corps pour arriver à se désintoxiquer peu à peu du second.

f) Influence de la concentration des ions H sur l'anesthésie de la cornée.

Cette étude a été exposée dans ma thèse de Doctorat ès-Sciences.

Observant l'action anesthésique produite sur la cornée du lapin par différents anesthésiques, je fus frappé du fait que cette action était modifiée fortement par la réaction de la solution. Je fus donc amené à examiner cette question, en utilisant la méthode de mesure des anesthésies mise au point sur la cornée, et en exprimant le degré d'acidité ou d'alcalinité des solutions de chlorhydrate de cocaïne par leur pH.

Les constatations suivante furent faites :
Le pouvoir anesthésique d'une solution de chlorhydrate de cocaïne est de plus en plus augmenté par des additions successives d'alcali. Très peu marquée pour les solutions encore acides, cette augmentation est surtout sensible à partir de la neutralité. Au pH 8,4, à partir duquel toute addition de soude détermine instantanément une précipitation, le pouvoir anesthésique est multiplié par 7,8.

De plus, la marche même de l'anesthésie subit des variations. L'alcalinité rend l'anesthésie non seulement plus profonde, mais plus précoce et plus longue. En revanche, l'acidité non seulement diminue relativement le pouvoir anesthésique, mais est très souvent la cause d'échecs dans les essais d'anesthésie: l'anesthésique ne prend pas. Cette dernière constatation a une certaine valeur pratique, car les solutions anesthésiques peuvent s'acidifier soit par stérilisation à température trop élevée, soit par simple vieillissement. Il semble donc naturel de rapprocher les faits trouvés des échecs quelquefois observés en clinique par l'usage de certaines solutions.

Les auteurs allemands, sans étudier plus à fond le phénomène, avaient déjà constaté l'augmentation du pouvoir anesthésique par alcalinisation. Un de ces auteurs, O. Gros, avait

avait expliqué ce fait par l'hypothèse que la base cocaïne est plus active que son chlorhydrate. Pour vérifier cette hypothèse, je dus montrer d'abord que les solutions de cocaïne base s'altèrent rapidement (ce qui expliquait les résultats contradictoires trouvés par des auteurs anglais), puis je montrais que ces solutions très récentes sont sensiblement sur la cornée quatre fois plus actives que le chlorhydrate. En tenant compte de cette plus value anesthésique, connaissant d'après la quantité de soude ajoutée la quantité de base libérée, il devenait possible de calculer l'augmentation du pouvoir anesthésique à tel ou tel pH, si, comme le pensait l'auteur allemand, seul le processus de mise en liberté de la base intervenait. Je pus ainsi me rendre compte que l'hypothèse de O. Gros était insuffisante pour expliquer les belles augmentations de pouvoir anesthésique constatées par l'expérience. Ce résultat était du reste à prévoir, car la quantité de base cocaïne mise en liberté était évidemment très faible.

Une autre théorie méritait aussi d'être envisagée. Pour Traube, le facteur déterminant des phénomènes d'absorption cellulaire n'est plus la solubilité dans les lipoïdes, mais la tension superficielle que présente la solution offerte à la cellule. L'abaissement de la tension superficielle facilite la pénétration dans la cellule. Or, dans les phénomènes que nous étudions, il se produit précisément par l'alcalinisation, comme nous l'avons vérifié, un abaissement de la tension superficielle. Traube admit donc que l'augmentation du pouvoir anesthésique était due à cette variation de la tension superficielle.

Si cette hypothèse était exacte, il devait être possible d'augmenter le pouvoir anesthésique d'une solution, uniquement en abaissant sa tension superficielle. Avec la collaboration de R. David, nous préparâmes donc des solutions de chlorhydrate de cocaïne à pH constant, plus petit que 7, et à tension superficielle artificiellement diminuée par addition d'alcool octylique. Ces solutions ne présentèrent pas de valeurs anesthésiques supérieures à celles des solutions ordinaires. L'hypothèse de Traube ne se vérifiait donc pas. Un dernier fait allait montrer, encore mieux, l'impuissance des deux hypothèses envisagées pour expliquer le phénomène. Par addition d'alcali à une solution de base cocaïne récemment préparée, il ne se produisait aucune mise en liberté de corps plus anesthésique, aucune diminution de tension superficielle, et pourtant le pouvoir anesthésique augmentait, et il augmentait d'autant plus que la solution avait reçu plus d'alcali.

Cette fois, le phénomène apparaissait dans toute sa pureté débarrassé des phénomènes annexes, qu'avaient envisagés uniquement les auteurs étrangers.

Donc, il nous faut admettre qu'il se produit, du fait de l'addition de l'alcali, une modification physique ou chimique, favorable à l'anesthésie, qui nous échappe encore; ou bien, il nous faut admettre que l'alcali augmente le pouvoir anesthésique non pas par une action sur la substance anesthésique mais par une action directe sur la cellule réceptrice. Nous allons montrer plus loin que ces deux hypothèses sont parfaitement plausibles, et que la seconde, particulièrement, a toutes chances d'être bonne.

g) Mode de fixation de la cocaïne sur les fibres nerveuses:

Adsorption - Influence sur ce processus physicochimique de la réaction (pH) et de la température.

Ces recherches, faites pour essayer d'expliquer les résultats physiologiques réguliers, obtenus dans l'étude de l'action du chlorhydrate de cocaïne sur les différentes fibres nerveuses, ont été effectuées avec G. Valette. Les résultats seront, dans très peu de temps, présentés par notre collaborateur dans une thèse de Doctorat ès-Sciences.

Nous avons exposé plus haut que les trois courbes "concentration-action" obtenues en portant en abscisses les concentrations en cocaïne, et en ordonnées les baisses de chronaxie, sont toutes trois de forme semblable, rappelant une parabole; et nous avons montré qu'elles exprimaient certainement l'évolution du même phénomène, malgré la variation des conditions physiologiques, puisqu'il était possible de passer de l'une aux autres en multipliant simplement les données par des coefficients constants. Il est naturel d'admettre que la grandeur de la réaction physiologique (pourcentage de baisse de la chronaxie) varie en même temps que le poids d'anesthésique fixé par une même quantité de substance nerveuse. Si bien que l'on peut considérer nos courbes comme exprimant, en fonction de la concentration des solutions de cocaïne, la quantité de cet alcaloïde fixée par une même quantité de fibres nerveuses.

Pour comprendre le mécanisme de cette réaction : (Cocaïne + substance nerveuse), trois hypothèses viennent à l'esprit :

Il peut s'agir : 1° d'une combinaison chimique, 2° d'une solubilité dans les lipoïdes, selon la théorie de Meyer et Overton. 3° d'une adsorption.

La forme parabolique des courbes obtenues nous oblige à rejeter la première de ces hypothèses. En effet, s'il s'agissait d'une combinaison chimique, en vertu de la loi des proportions définies, à un même poids de nerf se combinerait



toujours le même poids de substance chimique, et la loi de fixation serait exprimée par une droite parallèle à l'axe des abscisses. -

Théoriquement, il nous serait possible de rejeter aussi la deuxième hypothèse, puisque, en vertu du coefficient de partage, la loi de fixation serait exprimée par une droite inclinée sur l'axe des X. Cependant, l'on sait, depuis de récents travaux, que le partage dépend de l'état moléculaire qui peut n'être pas le même entre deux dissolvants aussi différents l'un de l'autre que l'eau et les lipoides, (polymérisation, ionisation différente), et l'on sait que ces modifications peuvent donner lieu à une loi de fixation plus compliquée qu'une droite. Nous ne sommes donc pas absolument en droit de rejeter la deuxième hypothèse.

Cependant, la troisième hypothèse, celle de l'adsorption, qui s'exprime, comme nous le savons, par une loi exponentielle parabolique, reste évidemment la plus indiquée.

Dans une première série d'expériences, après que G. Valette eut réussi à mettre au point une méthode de dosage des petites quantités de cocaïne (précipitation par l'acide silicotungstique), nous avons cherché quelle était la loi de partage de la cocaïne entre l'huile d'olive et l'eau, après agitation de deux heures, en fonction des concentrations en alcaloïde. Nous avons constaté que cette loi s'exprimait non pas par une droite, mais par une courbe légèrement infléchie vers le haut. Le partage se fait donc de plus en plus en faveur de l'huile quand la concentration augmente. Le coefficient de partage, comme nous le prévoyions tout à l'heure, n'est donc pas constant. Quoiqu'il en soit, la courbe, obtenue dans cet essai de liposolubilité, est nettement différente de la courbe "concentration-action" dont nous sommes partis. Nous pouvons donc considérer que l'hypothèse de Meyer et Overton est incapable d'expliquer nos résultats.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons cherché à vérifier l'hypothèse de fixation de l'alcaloïde par un processus d'adsorption.

Nous avons d'abord vérifié que la fixation du chlorhydrate de cocaïne sur le charbon animal s'effectuait bien suivant l'équation d'adsorption de Freundlich, puis nous avons répété ces expériences en remplaçant le charbon animal par des nerfs récemment recueillis (pneumogastriques du boeuf). Nous avons constaté, de même que dans le cas du charbon, que la fixation, en présence de liquide de Ringer à pH 7, était terminée au bout de deux heures et que les courbes obtenues suivaient parfaitement les règles de l'adsorption normale. C'est-à-dire que si l'on porte en abscisses la concentration finale, et en



ordonnées le poids fixé par 1 gr de nerf, on obtient une courbe sensiblement de forme parabolique, et que, de plus, la courbe qui exprime les relations entre les logarithmes des valeurs précédentes est très sensiblement rectiligne. Enfin, si l'on prend la valeur moyenne des angles que forment les différents segments de cette dernière courbe avec l'axe des abscisses, on constate que la tangente de l'angle ainsi obtenu est égale à 0,52. Or on sait que cette tangente correspond à la constante $\frac{1}{n}$ de l'expression logarithmique d'une adsorption normale.

$$\log. \frac{x}{m} = k + \frac{1}{n} \log C.$$

et que, généralement, cette valeur est comprise entre 0,3 et 0,8.

D'autre part, il nous est, dans une certaine mesure, possible, par le simple examen des courbes physiologiques "concentration-action", de constater que l'on a affaire à un processus d'adsorption. En effet, si l'on porte en abscisses les logarithmes des concentrations initiales des solutions de chlorhydrate de cocaïne, et en ordonnées les logarithmes des baisses de chronaxie, on constate que la loi obtenue n'est pas rigoureusement rectiligne.

Mais si, en particulier pour les essais sur le nerf sensitif de la grenouille, on retranche des concentrations initiales les quantités d'alcaloïde fixées par le nerf, (difficultés particulières pour le dosage des très petites quantités fixées par le nerf de la grenouille), on obtient les concentrations finales, seules à considérer dans la règle de Freundlich, et on constate, en établissant de nouveau la loi logarithmique, qu'elle est exprimée cette fois par une véritable droite.

Quoiqu'il en soit, en nous basant particulièrement sur les essais effectués sur le pneumogastrique du boeuf, et en considérant la rapidité de fixation, la forme des courbes, et la valeur de $\frac{I}{n}$ nous pouvons dire que la cocaïne se fixe bien sur la fibre nerveuse par un processus d'adsorption normale.

Cette constatation va nous permettre d'apporter pour certains faits de véritables explications, et pour d'autres des hypothèses nouvelles. Insistons ici simplement sur quelques unes des conséquences.

Nous avons tout d'abord, pour essayer de comprendre l'influence des ions H, telle que nous l'avons exposée plus haut, cherché, avec G. Valette, s'il ne se produisait, par alcalinisation une modification dans le processus d'adsorption.

Après avoir vérifié, avec l'aide de Melle J. Lévy, que le phénomène constaté sur la cornée du lapin se produisait de même sur les fibres nerveuses du lingual du chien, nous avons étudié, en faisant varier le pH, l'adsorption d'une solution de chlorhydrate de cocaïne d'une part vis-à-vis du charbon, et d'autre part vis à vis des fibres nerveuses du pneumogastrique du boeuf.

Dans l'un et l'autre cas, nous avons constaté que l'adsorption croissait au fur et à mesure de l'augmentation du pH. Mais, alors que pour le charbon l'adsorption était régulière et lente, (devenant, simplement, 1,5 fois plus grande quand le pH passait de 3 à 7,5), pour le nerf l'augmentation se montrait bien plus prononcée à partir de pH 6 et l'adsorption devenait, en passant de pH 3 à pH 7,6), plus de 5 fois plus grande.

Ces résultats, obtenus in vitro sur les fibres nerveuses, sont donc tout à fait superposables aux résultats physiologiques que nous avons exposés plus haut. Nous y retrouvons, notamment, l'augmentation nette du processus après un certain pH, et nous y voyons des chiffres qui sont absolument du même ordre. Nous nous croyons donc en droit de conclure que le phénomène physiologique est lié au phénomène physicochimique.

Bien plus, il ressort fort nettement, de la comparaison des expériences faites sur le charbon et sur le nerf, que le tissu vivant constitue un élément tout à fait spécial et important pour l'ampleur de ces phénomènes. Il est ainsi évident que, selon l'hypothèse que j'avais formulée, l'alcali agit directement sur la cellule nerveuse en renforçant (modification des charges de part et d'autre d'un point isoélectrique?) son pouvoir d'adsorption.

Il n'en reste pas moins certain qu'il existe une action de l'alcali sur la solution anesthésique. D'une part, en effet, à la lumière de travaux récents, on peut admettre que l'alcalinisation est capable de faire rétrograder la dissociation de l'anesthésique avec formation de plus en plus grande de particules de base cocaïne, sortes de micelles colloïdales électriquement chargées. Mais, d'autre part, comme la plus grande partie du chlorhydrate de cocaïne reste à l'état de sel dissocié, il est fort possible, si les charges électriques interviennent, qu'il se fasse, du fait de la modification du pH, une modification importante dans l'adsorption des ions.

A vrai dire, il nous est, pour le moment, impossible de nous prononcer sur ce dernier point. Le problème de l'hydrolyse et de l'ionisation du chlorhydrate de cocaïne et de la base cocaïne déjà, complexe par lui-même, se complique du fait que nos dernières expériences sont faites, par force, en présence des multiples sels du liquide de Ringer. Nous espérons

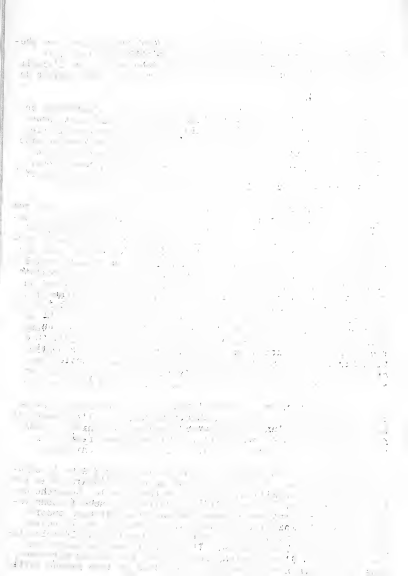
dans les années qui viennent pouvoir comprendre mieux ces phénomènes. Retenons simplement, sans préjuger du reste, le point important pour nos précédentes recherches, que l'alcali exerce certainement une action sur la cellule même chargée de l'adsorption.

Avec G. Valette, nous avons enfin étudié l'influence de la chaleur sur le processus d'adsorption. D'une part, nous avons fait varier, dans les limites compatibles avec la vie, la température de la solution de chlorhydrate de cocaïne mise en présence soit du charbon, soit de la substance nerveuse, d'autre part, exagérant l'action de la chaleur, nous avons, avant de procéder à la mesure de l'adsorption, porté le nerf à une température capable de détruire les tissus vivants.

Des premières expériences, nous pouvons conclure que, contrairement au oas général, l'adsorption du chlorhydrate de cooaïne croit quand la température s'élève. Ce phénomène, net pour le charbon, est encore bien plus net pour les fibres nerveuses. Chose remarquable, les résultats des expériences physiologiques faites avec Melle Jeanne Lévy, en faisant varier la température de l'essai, ne s'accordent pas avec les résultats signalés plus haut. En effet, si nous modifions, pendant un certain temps avant l'essai, la température de la grenouille entière, nous constatons, sur le nerf moteur, que la baisse de chronaxie augmente quand la température s'accroit, ce qui paraît confirmer les essais d'adsorption in vitro. Mais quand, d'une façon plus logique, nous nous bornons à refroidir ou à réchauffer la solution anesthésique au moment de son applioation sur le tissu nerveux, nous constatons que l'aotion physiologique diminue quand la température augmente, ce qui est contraire aux résultats trouvés pour les essais d'adsorption.

Ces divergenoes peuvent s'expliquer soit par une modification de la sensibilité à l'action anesthésique, sous l'influence de la température, d'un tissu nerveux prélevé sur animal à sang froid, soit par une action propre aux solutions froides se traduisant par un accroissement de la baisse de chronaxie.

Enfin, si nous portons, avant de le plonger dans la solution anesthésique, le nerf, pendant un quart d'heure, à la température de l'ébullition, nous constatons que le phénomène de fixation est tout à fait modifié. Certes, si nous faisons varier les concentrations de l'anesthésique nous obtenons encore une courbe d'adsorption, moins nette oependant que la courbe obtenue sur le tissu normal, mais les quantités d'alcaloïde fixées sont bien plus faibles. Il apparaît donc nettement que les phénomènes d'adsorption, produits par les fibres nerveuses, sont des phénomènes vitaux liés, au moins en très grande partie à la constitution physico-chimique du nerf.



Cette dernière expérience, dont le résultat était à prévoir, ne doit être considérée que comme une expérience préliminaire. Il est fort probable que des chauffages à températures variées, que des traitements par des solvants ou par des coagulants divers, pourront nous donner une idée de la nature des constituants de la fibre nerveuse, qui jouent un rôle dans l'adsorption.

h) Destruction par la chaleur et le vieillissement de la base cocaïne en solution aqueuse.

La stérilisation et la conservation des solutions de chlorhydrate de cocaïne ont posé, depuis l'utilisation clinique de cet anesthésique, un important problème. J'ai été amené par mes recherches précédentes à aborder cette question en étudiant la conservation des solutions aqueuses de base cocaïne.

On sait depuis longtemps que l'eau bouillante détruit très vite la base cocaïne. J'ai montré que l'eau, même à la température ordinaire, décompose assez rapidement ce corps. Cette décomposition a été suivie par la baisse du pH, par la hausse de la tension superficielle, par la perte progressive du pouvoir de précipiter la liqueur iodoiodurée, et par la perte du pouvoir anesthésique. Il se produit un dédoublement de la base, complet en quelques jours, avec mise en liberté d'alcool méthylique et de benzoylecgonine. D'une part, ces deux produits ont été isolés et caractérisée; et, d'autre part, les essais précédents effectués sur une solution de benzoylecgonine ont donné les mêmes résultats que ceux trouvés sur une solution de base cocaïne vieillie de quatre jours. Nous avons ainsi une double preuve de la destruction de la cocaïne avec mise en liberté de benzoylecgonine.

Il résulte, entre autres choses, de ces faits que les chiffres donnés par différents auteurs, pour caractériser la solubilité de la base cocaïne dans l'eau, sont dépourvus de valeur, car les produits du dédoublement sont beaucoup plus solubles dans l'eau que la cocaïne elle-même.

Il était logique de penser que ces phénomènes de destruction de la base, à chaud ou à froid, pouvaient jouer un rôle dans la stérilisation et dans la conservation des solutions de chlorhydrate de cocaïne. Après avoir montré, en effet, que les solutions, récentes et faites à froid, de ce sel étaient légèrement acides, (pH 4,8), j'avais constaté que des solutions d'ampoules commerciales s'étaient encore acidifiées (pH 2,8-3,0)

D'autre part, A. Liot et L. Roy avaient montré que le chauffage des solutions augmentait rapidement l'acidification. Le dernier de ces auteurs avait même mis en évidence l'acide chlorhydrique libre. Il était donc naturel de penser que la base cocaïne, parallèlement libérée par ces phénomènes bien connus d'hydrolyse, devait subir la destruction que nous avions

étudiée. Ainsi, par des processus consécutifs d'hydrolyse puis de dédoublement, devait se produire, rapidement à chaud, lentement à froid, la destruction progressive du chlorhydrate de cocaïne, réaction tendant peut-être à créer un état d'équilibre.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons institué avec A. Liot une série d'expériences. Commencés depuis plusieurs années, ces essais se poursuivent. Ils portent sur des solutions de chlorhydrate de cocaïne stérilisées à diverses températures, et conservées à la température du laboratoire. Nous avons examiné l'état de ces solutions à différentes époques, en mesurant leur pouvoir anesthésique, leur pH, leur tension superficielle et leur déviation polarimètrique. Sous l'influence de la chaleur, alors que les deux derniers tests se maintiennent sensiblement à la même valeur, constatation déjà faite par plusieurs auteurs, (et qui peut s'expliquer, dans notre hypothèse, par le fait que le chlorhydrate de cocaïne et la benzoylecgonine possèdent des tensions superficielles sensiblement égales et des pouvoirs rotatoires assez voisins), nous constatons que les pouvoirs anesthésiques et les pH baissent nettement.

Nous pouvons donc conclure, dès maintenant, que non seulement les hautes températures détruisent une partie du chlorhydrate de cocaïne, mais que le vieillissement seul peut être responsable d'une destruction partielle de l'anesthésique.

Rappelons que ces solutions vieillies, déjà diminuées de force anesthésique, présentent un pH nettement acide et que, de ce fait, l'action sur la cellule est rendue plus aléatoire. En effet, dans nos expériences, nous voyons croître le nombre des échecs dans les essais d'anesthésie au fur et à mesure que le vieillissement se poursuit. Au point de vue pratique, il est pourtant utile de faire remarquer que ces deux phénomènes, acidification et destruction de la cocaïne, peuvent être amortis, dans leur action nuisible, jusqu'à un certain point. En effet, d'une part, dans les conditions normales cliniques, le pouvoir tampon des humeurs doit jouer un rôle régularisateur. Et, d'autre part, les solutions utilisées sont la plupart du temps employées en quantités plus grandes, ou préparées avec une teneur en substance active plus grande, qu'il le faudrait pour atteindre juste l'anesthésie utile. Ce n'est donc que dans des circonstances particulièrement défectueuses que les phénomènes mis en évidence peuvent intervenir.

Nous continuons nos expériences pour chercher si les réactions examinées plus haut tendent vers un état d'équilibre.

Ces essais ont été complétés par l'étude de solutions de chlorhydrate de cocaïne, alcalines ou acides, tamponnées. Ces recherches n'ont pas donné de bons résultats.

PHYSIOLOGIE

I - Chronaxie des fibres sensitives et motrices du sciatique de la grenouille. Valeurs moyennes et variations.

Au cours de nos recherches pharmacologiques, nous avons eu, avec H. Cardot, l'occasion de déterminer sur un grand nombre de grenouilles vertes (Rana esculenta) la chronaxie des fibres sensitives et motrices du sciatique en son état normal. Nos expériences se sont échelonnées sur près de trois années. Il ne nous a donc pas été possible d'opérer toujours à la même température ni d'utiliser des grenouilles de poids comparables. Nos grenouilles provenaient de différents lots, recueillis à différentes époques de l'année. Ces conditions nous ont permis de faire quelques remarques sur l'influence de la température extérieure et du poids de l'animal sur la valeur des chronaxies.

Nous pouvons énoncer les conclusions suivantes :

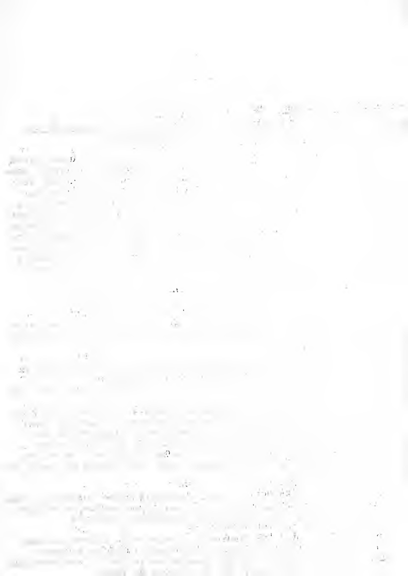
a). La chronaxie des fibres sensitives, ainsi que celle des fibres motrices, diminue au fur et à mesure que la température s'élève.

b) La chronaxie des fibres sensitives, ainsi que celle des fibres motrices, s'élève avec le poids des grenouilles mises en expérience, c'est-à-dire sensiblement avec leur âge.

c) La chronaxie des fibres sensitives présente de plus amples variations que la chronaxie motrice. Pour les grenouilles de petite taille, la première est légèrement inférieure à la seconde; pour les grenouilles de taille plus grosse, les deux valeurs tendent à se rapprocher, de sorte que l'on arrive à l'isochronisme pour les animaux de poids supérieur à 20 grs.

Nous pourrions donc ainsi concevoir comme possible, chez le jeune, un hétèrochronisme, qui serait, peut-être, en rapport avec une précisions moindre des mouvements réflexes.

Ajoutons que les mesures que nous avons faites ne nous ont permis de déceler aucune différence relative au sexe. Nous n'avons pas d'avantage observé de variation systématique des chronaxies au moment de la période du frai.



II - Etudes sur le fonctionnement de l'appareil thyroïdien, et sur l'influence qu'il exerce sur l'excitabilité corticale.

Les recherches, présentées ici, ont été faites en collaboration avec H. Cardot et D. Santenoise, puis avec ce dernier et ses élèves. Elles rentrent dans le cadre des études poursuivies, depuis plusieurs années, par D. Santenoise sur les rapports qui existent entre le système nerveux et les glandes endocrines. Elles ont eu pour objet l'étude de la glande thyroïde, de son innervation, de son fonctionnement, et de l'influence qu'elle exerce sur l'excitabilité des centres moteurs de l'écorce cérébrale. Elles ont abouti, après plusieurs années de travail, à la mise en évidence d'une hormone thyroïdienne régulatrice de l'excitabilité corticale.

Nous avons appliqué à cette étude les méthodes de mesure de l'excitabilité nerveuse (chronaxie) qui nous avaient déjà servi pour l'étude des anesthésiques locaux.

A) - Variations de l'excitabilité corticale en rapport avec l'excitabilité du nerf pneumogastrique, l'appareil thyroïdien et l'activité musculaire.

Dans cette première série d'expériences, nous avons étudié la variation de la chronaxie du gyrus sigmoïde chez le chien trépané, en agissant d'une part sur les pneumogastriques et l'appareil thyroïdien, d'autre part sur l'appareil musculaire. Les mouvements d'extension de la patte antérieure avaient été choisis comme test.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

1) La chronaxie corticale présente d'un animal à l'autre des variations très grandes (de 0,1 à 1,5 millièmes de seconde). Chez un même individu, elle est susceptible de varier très notablement à la suite de diverses interventions expérimentales.

2) Il y a une liaison étroite entre l'excitabilité corticale et l'excitabilité des centres pneumogastriques. L'appareil thyroïdien se présente comme un chainon intermédiaire entre ces deux excitabilités.
On peut, pour le démontrer, se baser sur les faits suivants:

   a) chez les divers individus, la valeur de la chronaxie du gyrus sigmoïde est en rapport étroit avec l'excitabilité des centres pneumogastriques. Les chiens très vagotoniques, caractérisés par un rythme cardiaque lent, une arythmie cardiaque respiratoire marquée, et un réflexe oculo-cardiaque très positif, ont de petites chronaxies corticales. Au contraire, ceux qui sont hypovagotoniques,

(absence de réflexe oculocardiaque) ont de fortes chronaxies.

b) Des substances capables de modifier l'excitabilité pneumogastrique quand elles sont injectées dans les veines déterminent une modification correspondante de l'excitabilité corticale: élévation de la chronaxie par l'atropine, diminution par l'ésérine.

c) La section des deux nerfs pneumogastriques au niveau du trou déchiré postérieur, au-dessus du ganglion plexiforme, entraîne une élévation de la chronaxie du gyrus. La section basse des deux pneumogastriques est au contraire sans influence sur la chronaxie.
La section totale des nerfs, émanés des pneumogastriques et fournissant des filets nerveux à l'appareil thyroïdien, agit comme la section haute des pneumogastriques, et provoque une augmentation notable de la chronaxie corticale. Au contraire l'excitation périphérique des filets thyroïdiens sectionnés provoque une très forte, mais passagère, diminution de la chronaxie.

3) - Un autre facteur, en rapport avec l'activité musculaire, peut aussi, indépendamment du mécanisme précédent, intervenir pour faire varier la chronaxie corticale: lorsqu'on refroidit l'animal et qu'on provoque ainsi le frisson, on observe pour une longue période un abaissement de la chronaxie corticale.
Ce fait se produit, sans que les appareils pneumogastriques et thyroïdien interviennent, que ces deux appareils soient intacts ou non. Des contractions tétaniques provoquées dans le train postérieur, par excitation des sciatiques, exercent le même effet que le frisson.
Nos recherches mettent donc en lumière d'une façon précise deux facteurs importants et indépendants pouvant modifier l'excitabilité corticale. Ces deux facteurs apparaissent quand on analyse avec soin le mécanisme d'action de l'ésérine:

a) à la dose de 0,mgr 05 par kilogramme, le salicylate d'ésérine, par voie intraveineuse, détermine chez l'animal, dont les pneumogastriques et l'innervation thyroïdienne sont intacts, une forte diminution de la chronaxie du gyrus.

b) à la même dose, sur l'animal ayant subi une double vagotomie haute, ou une section totale des filets thyroïdiens, on n'observe aucune variation de chronaxie.

c) une dose trois fois plus forte diminue la chronaxie du gyrus, même après double vagotomie haute ou section totale des filets thyroïdiens. Mais cette dose forte détermine toujours chez l'animal de fortes trémulations musculaires. Il apparaît donc que, par l'administration de doses croissantes d'ésérine, on peut successivement mettre en jeu les deux facteurs mentionnés : facteur pneumogastrique et thyroïdien avec les doses faibles; facteur musculaire avec les doses fortes.

De tous ces faits, nous pouvons donc conclure que la chronaxie du gyrus sigmoïde chez le chien présente de très amples bariations, en rapport, d'une part avec les pneumogastriques et l'appareil thyroïdien, et, d'autre part avec l'appareil musculaire.

B) La régulation de l'excitabilité corticale par l'appareil thyroïdien est sous la seule dépendance du pneumogastrique. - Le sympathique n'intervient pas.

Nous avons dit plus haut que la section des deux nerfs pneumogastriques, au niveau du trou déchiré postérieur, était suivie, chez le chien, d'une élévation de la chronaxie corticale. Les recherches ultérieures nous ont permis de penser que cette variation de la chronaxie était liée à une disparition de l'action normalement exercée par le pneumogastrique sur l'appareil thyroïdien. Cependant il est généralement admis que c'est le sympathique qui innerve l'appareil thyroïdien. Il s'agissait donc de savoir si les variations observées n'étaient pas dues à la section des filets sympathiques, et cette question était d'autant plus embarrassante que pneumogastrique et sympathique sont réunis chez le chien en un tronc vago-sympathique. On pouvait ainsi se demander si les filets, semblant tirer leur origine du pneumogastrique au niveau du ganglion plexiforme, ne contenaient pas de fibres sympathiques suivant cette voie pour se rendre à la thyroïde par un trajet récurrent.

Pour élucider ce point important au point de vue anatomo-physiologique, nous avons procédé à deux sortes d'essais :

1) Nous avons laissé intacts les filets se rendant à l'appareil thyroïdien et pouvant être d'origine pneumogastrique, et nous avons supprimé les filets d'origine sympathique.
   Pour cela, nous avons sectionné les ganglions sympathiques supérieurs au-dessus de l'anastomose avec le pneumogastrique, et, pour éliminer les filets sympathiques pouvant provenir du ganglion cervical inférieur, nous avons procédé à une section basse du tronc commun vaso sympathique du cou.



Dans ces conditions, nous n'avons jamais observé de variations notables de la chronaxie corticable. De plus, nous avons vérifié que, chez ces animaux, l'injection d'une faible quantité d'ésérine faisait tomber la chronaxie, ainsi que nous l'avons précédemment décrit.

2) Nous avons pratiqué la contre épreuve, en réalisant la section haute des deux pneumogastriques, et en nous attachant à respecter les fibres sympathiques venant du ganglion cervical supérieur ou du ganglion plexiforme.
Dans ces conditions, nous avons toujours observé une élévation nette de la chronaxie corticale exactement superposable à celle que nous avons déjà décrite. De plus, dans ces cas, l'injection de doses faibles d'ésérine (ne produisant pas de tremblement), n'a jamais fait varier la chronaxie.
Nous sommes donc bien en droit de penser que c'est le pneumogastrique, et non pas le sympathique, qui conditionne la régulation de l'excitabilité corticale par l'appareil thyroïdien.

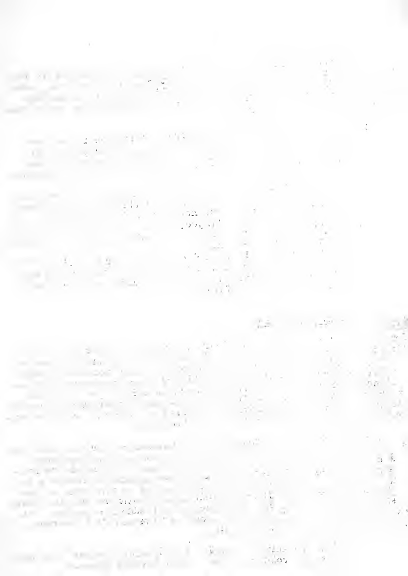
C) Eserine et appareil thyroïdien.

Comme nous l'avons dit à plusieurs reprises, nous avons utilisé très souvent le salicylate d'ésérine (solution extemporanée préparée avec de beaux cristaux) pour modifier l'excitabilité du système nerveux végétatif chez les animaux en expérience. Or il est actuellement bien établi que l'ésérine exerce son action sur les divers éléments (pneumogastrique et sympathique) du système neuro-végétatif. On a pour cette raison qualifié cette substance d'amphotrope.

Des recherches antérieures de Santenoise lui avaient permis de penser que l'ésérine agissait non pas simultanément mais successivement sur les deux systèmes, l'atteinte du système sympathique précédant de quelques minutes l'atteinte du vague. Il nous a donc semblé intéressant de chercher si sur l'appareil thyroïdien, innervé vraisemblablement par les deux systèmes, il n'y avait pas trace de cette double action. Si l'on observe la thyroïde au cours de l'action de l'ésérine, on constate les faits suivants :

1) Dans une première phase, la thyroïde diminue très notablement de volume et semble devenir flasque.

2) Au bout de quelques minutes, au contraire, la thyroïde se gonfle et devient rénittente au toucher. Ce gon-



flement coïncide avec le début de la phase de ralentissement du pouls.

3) Au bout d'un certain temps, qui semble d'autant plus court que les animaux sont plus nettement vagotoniques, la thyroïde se contracte à nouveau comme si elle se vidait de son contenu. Puis elle peut se regonfler et rediminuer ensuite de volume.
De même, si l'on place une canule dans une veine thyroïdienne, on peut aisément constater qu'il existe, au cours de ces diverses phases d'action de l'ésérine, une différence considérabls dans le débit sanguin. Dans la prsmière phase, le sang s'écoule avec peine, par contre, dès que se fait sentir l'action vagale, et que se produit le gonflement thyroïdisn, le sang veineux s'écoule abondamment et parfois en jet.

Nous avons rapproché ces résultats des constatations que l'on peut faire sur l'aspect de la thyroïde suivant le tonus vagal des animaux. Dans l'ensemble, nous avons noté, chez les animaux hypo vagotoniques, des thyroïdes petites et flasques, alors qu'en général, chez les animaux vagotoniques, ces glandes sont nettement plus gonflées.

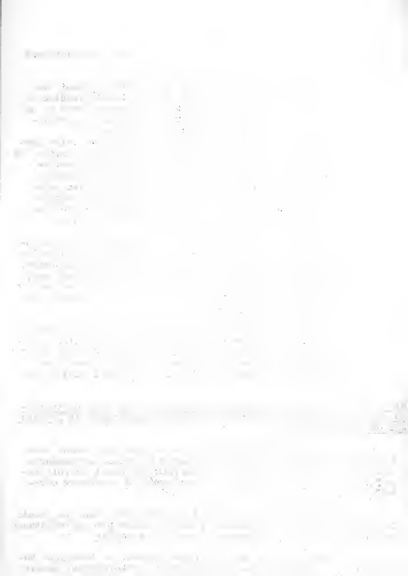
Ces constatations, intéressantss surtout parce qu'elles se rapportent à une glande à sécrétion interne, viennent encore à l'appui de la conception, dont nous parlions tout à l'heure, ds l'existence d'une innervation pneumogastrique de l'appareil thyroïdien.

D) Mise en évidence dans la glande thyroïde, le sang veineux thyroïdien, et le sang carotidien d'un pouvoir d'abaissement de la chronaxie du gyrus sigmoïde.

Nos recherches antérieures nous ont, comme nous l'avons vu, conduits à penser que, sous l'action excitosécrètoire du nerf vague, l'appareil thyroïdien jouait un rôle important dans la régulation de l'excitabilité du cortex cérébral.

Il était tout à fait indiqué de rechercher dans la glande thyroïde, et le sang efférent, s'il n'y avait pas une substance capable d'agir sur la ohronaxie du gyrus sigmoïde.

Nos recherches ont été réalisées suivant la technique habituelle : trépanation sous anesthésie au chloroforme, mesure de la chronaxis du gyrus à l'aide du chronaximètre de Lapicque, après révsil de l'animal et stabilisation de la chronaxie.



A ces chiens récepteurs, dont nous avons préalablement sectionné les vagues et les filets laryngiens supérieurs et pharyngiens (afin de supprimer l'action excito-seorétoire possible du vague sur la thyroïde, et d'obtenir ainsi régulièrement une ohronaxie élevée), nous avons injecté ou des extraits thyroïdiens préparés extemporanément par broyage dans du sérum physiologique, ou du sérum de sang provenant d'une veine thyroïdienne, ou du sang carotidien, ou du sérum de sang artériel.

Nous avons observé les résultats expérimentaux suivants:

a) - Alors que l'extrait thyroïdien obtenu chez les animaux hypovagotoniques n'a pas donné de sensible abaissement de la chronaxis, les sxtraits obtenus avec des thyroïdes ds ohiens fortement vagotoniques ont toujours provoqué des abaissements de la ohronaxie du gyrus.

b) - En excitant le pneumogastrique par une dose faible d'ésérine, on obtient un extrait particulièrement actif, faisant baisser rapidement et intensément la chronaxie du gyrus. Il est nécessaire, pour la préparation de cet extrait, de pratiquer l'ablation des glandes au moment même où se manifeste l'action exoito-secrétoire par le gonflement de la glande.

c) - Les extraits thyroïdiens de ohiens atropinisés ne donnent pas d'abaissement notable de la chronaxis.

d) - L'injection d'sxtraits thyroïdiens de chiens vagotomisés, ou à filets thyroïdisns séparés du tronc vague depuis plusieurs heures, s'est montrée inactive ou peu active. Par contre, l'excitation faradique nous a permis d'obtenir chez plusieurs de ces animaux vagotomisés, ou à filets thyroïdiens coupés, des extraits d'une activité notable.

e) - Nous avons pu mettre en évidence le pouvoir d'abaissement de la chronaxie du gyrus dans le sang efférent de la thyroïde, en injectant aux chiens récepteurs du sérum provenant de sang prélevé à la seringue dans la veine thyroïdienne inférieure de chiens soit naturellement vagotoniques, soit rendus vagotoniques par de l'ésérine. Par contre, prélevé sur des chiens hypovagotoniques, ls sérum de sang thyroïdien ne produit pas d'abaissemsnt notable de la chronaxie du gyrus sigmoïde. Ds même, l'injsction de sérum sanguin provenant d'une veine thyroïdienne de ohiens atropinisés s'est montrée inactive.

f) - Ce pouvoir d'abaissement de la chronaxie du gyrus a été retrouvé dans le sang carotidien des animaux vagotoniques ou ésérinés.
Par contre, l'injection de sang carotidien de chiens hypovagotoniques ou atropinisés s'est montrée inactive.

Dans toute cette série d'expériences, nous avons constaté que la chronaxie revenait à son chiffre antérieur, au bout d'un temps variable suivant la quantité d'extrait ou de sérum injectée, et le tonus vagal du donneur.

E) Extraction du principe actif. Hormone thyroïdienne régulatrice de l'excitabilité des centres psycho moteurs corticaux.

Nous pouvions donc conclure de tous ces faits que, sous l'action du vague (probablement excitosécrétoire), l'appareil thyroïdien donne au sang un pouvoir d'abaissement de la chronaxie du gyrus sigmoïde.
Il restait à extraire, autant qu'on pouvait espérer le faire, le principe actif, qui devait être à l'origine de ces phénomènes.

Après de multiples essais, nous nous sommes arrêtés à la méthode d'extraction suivante, dont nous ne donnons ici que le principe :

Injecter aux animaux donneurs une petite quantité de solution de salicylate d'ésérine (préparée extemporanément avec de beaux cristeaux).
Enlever les thyroïdes au moment du gonflement.
Broyer dans du sérum physiologique de pH déterminé.
Reprendre et précipiter dans l'alcool dilué à pH déterminé Précipitation de 24 heures. Filtrer. Evaporer sous pression réduite. Reprendre par l'alcool dilué à pH déterminé. Addition d'alcool absolu jusqu'à obtention d'alcool à 90°. Recueillir le précipité par filtration, en évitant à l'oxydation. Dessécher rapidement dans le vide et reprendre le résidu par du sérum physiologique.

Cette dernière solution injectée à un chien vagotomisé haut, trépané sous chloroforme anesthésique, et bien réveillé, provoque rapidement un abaissement de la chronaxie du centre d'extension de la patte antérieure. L'intensité et la durée du phénomène paraissent dépendre du nombre, de la taille, et du gonflement des glandes dont on est parti. Au bout d'un certain temps, la chronaxie remonte à sa valeur antérieure.

Dans toutes les expériences effectuées avec des préparations provenant de chiens vagotoniques ou ésérinés, il se produit une diminution, quelquefois très grande, de la chronaxie des centres psychomoteurs.

Par contre, nous n'avons pas pu obtenir de principe actif en partant de thyroïdes d'animaux hypovagotoniques.

Ainsi, après avoir montré que l'appareil thyroïdien produit et met en circulation, sous l'influence du pneumogastrique, un principe agissant sur l'excitabilité des centres psychomoteurs cérébraux, nous avons pu extraire, malgré l'imperfection de la technique employée, des quantités physiologiquement actives de cette substance; et nous avons constaté qu'elle exerce, à des doses très faibles, une action intense sur l'excitabilité des centres psychomoteurs. Il est à remarquer que nos essais n'ont porté que sur la régulation des centres psycho-moteurs, dont le fonctionnement peut être, comme nous l'avons vu, facilement contrôlé. Cependant il est fort possible que ce principe constitue l'hormone thyroïdienne, régulatrice de l'excitabilité générale du cerveau, dont l'existence est soupçonnée depuis longtemps.

LISTE CHRONOLOGIQUE DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES.

1918

1 - Contribution à l'étude de la sérothérapie gangréneuse des plaies de guerre (avec J. Mairesse. Presse Médicale N° 50, Septembre 1918).

2 - La gangrène gazeuse (avec J. Mairesse. J. Pharm. et Chimie t. 18, pp.294 et 334, 1918)

1922

3 - De l'évolution microbienne dans les premières heures de la plaie de guerre. (Thèse Doct. Pharmacie. Jouve édit. Paris 1922)

1923

4 - Mesure de l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses de la cornée par les anesthésiques locaux. Comparaison des pouvoirs anesthésiques de la cocaïne, de la novocaïne et de la stovaïne. (CR. Ac. des Sciences. t. 177, p. 558, 1923)

5 - Essais de mesure de l'anesthésie produite sur les terminaisons nerveuses (cornée, muqueuse linguale) par les anesthésiques locaux. Comparaison des pouvoirs anesthésiques. (Bul. Sc.pharm. t. 30, pp 580-646, 1923).

1924

6 - De la variation du pouvoir anesthésique du chlorhydrate de cocaïne en fonction de la teneur en ions hydrogène. (C.R. Ac. des Sciences t. 177, p. 354, 1924 et Bul. Sc. pharm. t. 31, p. 513, 1924).

7 - De l'augmentation des anesthésies produites sur la cornée par alcalinisation des solutions de chlorhydrate de cocaïne.
(C.R. Soc. Bio. t 92, p. 605, 1925 et Bul. Sc. pharm. t. 32 p. 271, 1925)

1925

8 - Sur l'hydrolyse spontanée de la base cocaïne en solution aqueuse à la température ordinaire. (Bul. Sc. pharm. t.32 p. 405, 1925).

9 - Du rôle de la tension superficielle dans l'augmentation des anesthésies produites par alcalinisation des solutions de chlorhydrate de cocaïne. (avec R. David. C.R. Soc. Bio. t. 93, p. 836, 1925 et Bul. Sc. pharm. t. 32, p. 513, 1925).

10 - Influence de la concentration des ions H sur un phénomène physiologique: anesthésie de la cornée par le chlorhydrate de cocaïne. (Thèse Doct. ès-sciences nat. Brulliard éd. Saint-Dizier).

11 - Adrénaline et Capsules surrénales (Revue de Physiologie) (Bul. Sc. pharm. t. 32, p. 661, 1925).

12 - Les agents thérapeutiques chimiques en 1923-1924. (Revue de Chimiothérapie) (avec L. Deval Rev. méd. franç. t.5, p. 391, 1924 et t. 6. p. 45, 1925).

1926

13 - Contribution à l'étude pharmacologique du chlorhydrate de cocaïne. Action sur la chronaxie du nerf moteur. (avec H. Cardot. Bul. Sc. pharm. t. 33, p. 10, 1926)

14 - Etude pharmacodynamique de quelques benzhydrylamines mono et dialcoxylées. (avec P. Sallé. Bul. Sc. pharm. t. 33, p. 91, 1926)

15 - Influence de l'atropine et de l'ésérine sur la chronaxie du gyrus sigmoïde (avec H. Cardot et D. Santenoise. CR. Soc. Bio. t. 95, p. 1334, 1926).

16 - Action du chlorhydrate de cocaïne sur le tronc nerveux. Modification des paramètres de l'excitabilité des fibres sensitives. (avec H. Cardot. C.R. Soc. Bio. t. 95. p.1247 1926).

1927

17 - Excitabilité pneumogastrique et excitabilité corticale. (avec H. Cardot, D. Santenoise et P. Varé. C.R. Soc. Bio. t. 96, p. 665, 1927)

18 - Effets de la vagotomie sur l'excitabilité corticale. (avec H. Cardot. D. Santenoise et P. Varé. C.R. Soc. Bio. t. 96, p. 774, 1927)

19 - Effets de la section et de l'excitation des filets thyroïdiens d'origine pneumogastrique sur l'excitabilité corticale (avec H. Cardot, D. Santenoise et P. Varé. C.R. Soc. Bio. t. 96, p. 775, 1927).

20 - Influence de l'activité musculaire sur l'excitabilité corticale (avec H. Cardot. D. Santenoise et P. Varé. C.R. Soc Bio. t. 97, p. 698, 1927).



1927 -

21 - Sur les variations de l'excitabilité corticale en rapport avec l'excitabilité pneumogastrique, l'appareil thyroïdien et l'activité musculaire. (avec H. Cardot. D. Santenoise et P. Varé. C.R. Ac. Sc. t. 184, p. 1598, 1927).

22 - Contributions à l'étude pharmacologique de chlorhydrate de cocaïne. Action sur la chronaxie du nerf sensitif. (avec H. Cardot. C.R. Soc. Bio. t. 97, p. 1136, 1927)

23 - Chronaxie des fibres motrices et sensitives du sciatique de la grenouille. (avec H. Cardot. C.R. Soc. Bio. t. 97, p. 1136, 1927)

24 - Mesure de l'activité des anesthésiques locaux. Etude quantitative de l'action du chlorhydrate de cocaïne sur les fibres nerveuses sensitives. (Bul. Sc. pharm. t. 34, pp. 641 - 692, 1927).

25 - Influence de la réaction acide, neutre ou alcaline, d'une solution anesthésique sur son pouvoir physiologique. (La Médecine, t. 8, p. 930, 1927).

26 - Nouveaux éléments du problème de la stérilisation des sondes (avec F. Legueu et H. Verliac. Arch. Urol. Clini. Necker, t. 5. fas 4. 1927)

27 - Introduction à l'étude des antiseptiques. Etude numérique du croît d'un bacille pyocyanique dans un milieu de culture liquide. (avec Suzanne Lambin. C.R. Soc. Bio. t. 96, p. 1358, 1927 et Bul. Sc. pharm. t. 34, pp. 401 - 490, 1927).

1928 -

28 - Mise en évidence dans la glande thyroïde, le sang veineux thyroïdien, et le sang carotidien, d'un pouvoir d'abaissement de la chronaxie du gyrus sigmoïde (avec D. Santenoise, P. Varé et H. Verdier. Bul. Ac. Méd. t. 99, p.294, 1928).

29 - Pneumogastrique et appareil thyroïdien (avec H. Cardot, D. Santenoise et Vidacovitch. CR. Soc. Bio. t. 99, p. 64, 1928).

30 - Pouvoir anesthésique de la cocaïne et de ses succédanés. (Paris Médical t. 18, p. 566, 1928)



<u>1929</u> -

31 - Hormone thyroïdienne régulatrice de l'excitabilité cérébrale (avec G. Fuchs, D. Santenoise et P. Varé. <u>C.R. Ac. Sciences</u>; t. 188, p. 419, 1929).

32 - Esérine et appareil thyroïdien (avec D. Santenoise, P. Varé et H. Verdier. <u>Bul. Ac. Méd</u>. t. 101, p. 109, 1929)

33 - Thyroïde et activité cérébrale. I. Pneumogastrique et chronaxie du gyrus sigmoïde (avec H. Cardot, D. Santenoise et P. Varé. <u>Revue française d'Endocrinologie</u>. t. 7, p.89 1929)

34 - Thyroïde et activité cérébrale. II. Pneumogastrique, appareil thyroïdien et chronaxie du gyrus sigmoïde (avec H. Cardot, D. Santenoise et P. Varé. <u>Revue française d'endocrinologie</u> t. 7, p. 185, 1929).

35 - Action du chlorhydrate de cocaïne sur un nerf sensitif non itératif (nerf lingual du chien, voie sensitive du réflexe linguo-maxillaire). (avec G. Valette. <u>Bul. Sc. pharm.</u> t. 36, p. 284, 1929)

36 - Action du chlorhydrate de cocaïne sur les troncs nerveux. Comparaison de l'action sur les fibres sensitives à l'action sur les fibres motrices. (<u>Bul. Sc. pharm</u>. t. 36, p. 401, 1929).

37 - Comparaison des pouvoirs anesthésiques de la cocaïne et de ses principaux succédanés sur les différents éléments nerveux. (<u>Bul. Ac. Méd</u>. t. 102, N° 29, 1929).

38 - Mesures de l'activité du chlorhydrate de cocaïne sur différents troncs nerveux (<u>C.R. Ac. Sc</u>. t. 189, p 264, 1929)

39 - Action des succédanés de la cocaïne sur les troncs nerveux. Comparaison de leur activité sur les fibres sensitives à leur activité sur les fibres motrices. (<u>C.R. Ac. Sc</u>. t. 189, p. 339, 1929).

40 - Méthodes de mesure de l'activité des anesthésiques locaux. (<u>Thèse de Doctorat en Médecine</u>. Paris 1929, édit: A. Brulliard. St. Dizier).

41 - Cocaïne gauche et pseudocaïne droite: toxicité comparée et destruction différente par l'organisme animal (avec F. Mercier. <u>C.R. Ac. Sc.t</u>.189, p. 872, 1929).

42 - Pseudococaïne droite et cocaïne gauche: essais comparés de rachianesthésie chez le chien. (avec F. Mercier. <u>C.R. Ac. Sc</u>. t. 189, p. 1321, 1929)

1929 -

43 - Contribution à l'étude pharmacologique de la pseudo cocaïne droite. (avec F. Mercier. Soc. Thér. 11 déc. 1929).

1930 -

44 - Propriétés pharmacologiques des isomères de la cocaïne (avec Mercier. Bul. Sc. Pharm. t. 37, pp 65, 219, 314, 1930).

45 - Sur un nouvel anesthésique local: le chlorhydrate de pseudo cocaïne droite. (avec Mercier. Bulletin Médical, t. 44, p. 306, 1930).

46 - Démonstration physiologique directe de l'existence d'une hormone thyroïdienne régulatrice de l'excitabilité des centres psychomoteurs. (avec D. Santenoise, Varé, Verdier et Vidacovitch. Revue française d'Endocrinologie. Février 1930).

47 - Etude du mode de fixation du chlorhydrate de cocaïne sur les fibres nerveuses. (avec G. Valette. C.R. Ac. Sc. t.190, p.1453, 16 Juin 1930).

TABLE DES MATIERES.

B) - P H A R M A C O L O G I E.

1 - Etude des anesthésiques locaux.

C) - P H Y S I O L O G I E.